BEITRÄGE ZUR EXPERIMENTELLEN THERAPIE

HERAUSGEGEBEN VON GEH. MED.-RATH PROF. Dr. E. BEHRING.

HEFT I

ÄTIOLOGIE UND THERAPIE

DER

STREPTOKOKKEN-INFECTIONEN

VON

Dr. W. von LINGELSHEIM

PRIVATDOCENT AN DER UNIVERSITÄT MARBURG.

AUS DEM INSTITUTE FÜR EXPERIMENTELLE THERAPIE
DES GEHEIMEN MED. RATHES PROF. Dr. E. BEHRING IN MARBURG.

URBAN & SCHWARZENBERG

BERLIN
NW., DOROTHEENSTRASSE 38/39

WIEN
I., MAXIMILIANSTRASSE 4

1899

Die „Beiträge zur experimentellen Therapie", herausgegeben von Geh. Med.-Rath Prof. Dr. E. Behring in Marburg, erscheinen in zwanglosen selbständigen Heften.

Aetiologie und Therapie der Streptokokkeninfectionen.

Von Dr. W. v. Lingelsheim.

I. Der Streptokokkus longus in seinen verschiedenen Formen verglichen mit verwandten Kokkenarten.

Die folgenden Untersuchungen beziehen sich im wesentlichen auf ein Streptokokkenmaterial, das ich im Anhange tabellarisch zusammengestellt habe. Ausser den daselbst aufgeführten Stämmen habe ich zeitweilig noch andere besessen, die Culturen aber wieder eingehen lassen, nachdem sich die Identität mit schon vorhandenen herausgestellt hatte.

Das erste, was beim Experimentiren mit Streptokokken verschiedener Herkunft dem bakteriologischen Arbeiter Schwierigkeiten bereitet, ist die Frage, inwieweit die zwischen verschiedenen Stämmen feststellbaren Unterschiede zur Annahme verschiedener Streptokokkenarten berechtigen und inwieweit dieselben als bloss zufälliger und vorübergehender Natur anzusehen sind. Die Ansichten haben hier, von der Entdeckung der Streptokokken an bis auf den heutigen Tag, nicht unerheblich geschwankt.

Fehleisen und *Rosenbach* wollten die Streptokokken des Erysipels scharf von denen der Eiterung trennen, und zwar hauptsächlich gestützt auf ihre Beobachtungen an Culturen auf festen Nährböden. Was jedoch diese Autoren als wesentliche Unterschiede ansahen, erwies sich in der Folgezeit als nicht stichhaltig, es zeigte sich vielmehr, dass rein zufällige Umstände, wie z. B. Differenzen im Alter der Culturen, im Impfmodus, in der Colonieenzahl etc. für das Aussehen der Culturen mehr in Betracht kamen als die Verschiedenheit der Herkunft. Ich erklärte deshalb in einer früheren Arbeit [43]) die Streptokokken aus Erysipelen mit denen aus Eiterungen für identisch und schlug für dieselben, auf Grund ihrer gemeinsamen morphologischen Charaktere, die Bezeichnung „Streptokokkus longus" vor. Die Identität wurde dann noch wahrscheinlicher, als es sich zeigte, dass auch das pathogene Verhalten der aus Eiterungen stammenden Streptokokken nicht grundsätzlich von dem der Erysipelstreptokokken abwich. Ich konnte in einer späteren Arbeit [44]) darauf hinweisen, dass man, beim Kaninchen wenigstens, Erysipel erzeugen kann mit langen Streptokokken gleichviel welcher Herkunft, und dass es zur Erzeugung dieses Processes nur eines be-

stimmten Impfmodus und einer bestimmten Virulenz des Streptokokkus bedürfte. Für den Menschen erbrachte später denselben Nachweis *Petruschky*[62], dem es gelang, mit Streptokokken aus Peritonealeiter typisches Erysipel zu erzeugen. So schienen alle Zweifel an der Gleichartigkeit wenigstens der in Bouillon lange Ketten bildenden Streptokokken beseitigt, als in neuester Zeit verschiedene bei streptokokkenimmunisirten Thieren gemachte Erfahrungen aufs neue Zweifel an der Identität erweckten. Es hat sich nämlich hiebei gezeigt, dass sowohl die activ wie passiv gegen Streptokokken acquirirte Immunität gegenüber langen Streptokokken verschiedener Herkunft, auch unter Voraussetzung gleicher Virulenz des Impfmateriales, einen sehr verschieden starken Schutz gewährt. Diese Beobachtungen lassen auf Unterschiede auch innerhalb der Gruppe der langen Streptokokken schliessen und werden vielleicht bei weiteren Untersuchungen zu einer Abgrenzung von Varietäten führen können.

Zur Zeit sind wir jedoch noch in unserem Urtheil auf morphologische und culturelle Kriterien angewiesen, und auf Grund dieser erweisen sich die Streptokokken des Erysipels, sowie die der meisten eiterigen und septischen Processe als eng zusammengehörig (Streptokokkus longus), andere zeigen jedoch Differenzen, die meines Erachtens zu einer Abgrenzung von diesen nöthigen. Was mir hier für die Beurtheilung als wichtig und massgebend erscheint, möchte ich in Folgendem den weiteren Betrachtungen voranstellen.

Morphologische Kriterien.

Die Korngrösse zeigt bei dem Streptokokkus longus verschiedener Herkunft keine grossen Differenzen. Sie beträgt im Durchmesser circa 0·9—1·2 μ. Bei älteren Culturen und auf ungeeignetem Nährmaterial begegnet man Grössendifferenzen der Kokken untereinander, so dass in demselben mikroskopischen Gesichtsfelde Ketten aus dickeren Kokken und solche aus dünneren zusammen liegen. Bisweilen zeigen sogar einzelne Kokken innerhalb derselben Kette eine abweichende Grösse.

schiede von ähnlichen bezeichnen möchte. Ein kleines Korn zeigen in der Regel die Pneumokokken, ferner sind durch ein kleines und rundes Korn ausgezeichnet die von *d'Espine* und *Marignac* [17]) aus Scharlachblut isolirten Formen.

Sehr grosse Differenzen in der Grösse der Kokken weisen die von *Escherich* [15]) im Darmcanal gefundenen Streptokokken auf, und zwar sowohl der als ein constanter Bewohner des Darmcanals bei Fleischnahrung festgestellte Streptokokkus coli gracilis wie der im Milchkoth gefundene Streptokokkus coli brevis. Die Grösse beträgt hier 0·2—0·4 μ im Durchschnitt, daneben kommen aber Kokken von der zwei- bis dreifachen Grösse vor. Zugleich begegnen wir hier neben der runden, kugeligen auch der elliptischen Form der Kokken, und zwar fällt hier die kleine Achse der Ellipse mit der Längsachse der Kette zusammen.

Von anderen Formen seien noch erwähnt die eirunde, bei der die spitzen Pole meist einander zugewandt sind, sowie die lanzettliche, bei der wir die spitzen Enden sowohl einander zu wie von einander abgewandt finden.

Wichtiger als Form und Grösse der einzelnen Kokken ist für die Beurtheilung eines Streptokokkus das Theilungsprincip desselben. Die Streptokokken verdanken ihr wichtigstes morphologisches Kriterium, das Kettenwachsthum, der Neigung ihrer Glieder, sich nur nach einer Richtung zu theilen. Diese Neigung ist nun bei dem Streptokokkus longus viel ausgesprochener als bei den meisten übrigen in Ketten auftretenden Kokkenarten und verlässt ihn selbst dann nicht, wenn durch besondere Einflüsse die Fähigkeit zur Kettenbildung herabgesetzt ist. Ich glaube sogar, dass man aus einer nachweisbaren Abweichung von diesem Theilungsprincip schon mit Sicherheit auf eine andere Art schliessen kann. So müsste man, allein auf die Länge der Ketten Rücksicht nehmend, den schon erwähnten Streptokokkus coli gracilis zu den langen Streptokokken rechnen. Derselbe gehört nun nach seinem ganzen culturellen Verhalten, Gelatineverflüssigung etc. nicht hiezu. Er lässt sich jedoch schon nach dem mikroskopischen Präparat aus dieser Gruppe ausscheiden, und zwar auf Grund der ausgesprochenen Neigung mancher Kokken, sich auch in der zur Längsachse der Kette senkrechten Richtung zu theilen. Solche Quertheilungen sind auch bei anderen Streptokokkenformen beobachtet, so bei den *Escherich*'schen Streptokokken der Säuglingsenteritis, bisweilen auch beim Streptokokkus brevis liquefaciens und anderen. Es können so Tetradenformen, ganze Doppelketten, nach *Stolz* [75]) auch wirkliche Gabelungen beobachtet werden. Es sei noch erwähnt, dass solche Theilungsformen bei den Streptokokken zuerst von *Babes* und von *Duclaux* beschrieben worden sind.

Manche der kurzen Streptokokkenformen umgeben sich im Thierkörper, bisweilen auch auf künstlichen Nährböden, mit einer für gewöhnlich als Kapsel bezeichneten Hülle. Es gehören hiezu der *Fränkel*sche Pneumokokkus, die kurzen Streptokokken der Lungenseuche der Rinder (Péripneumonie contagieuse du gros bétail) von *Poels* und *Nolen* [64]), die der Brustseuche der Pferde (Pleuropneumonia contagiosa) von *Schütz* [72]), ferner die von *Bonaghi* [6]) aus einer Meerschweinchenlunge gezüchtete Form.

Diese Kapsel ist jedoch für die genannten Streptokokken nicht so charakteristisch, dass man auf ihren Nachweis hin den Streptokokkus

longus ausschliessen könnte. Auch hiezu mit Sicherheit gehörende Vertreter bilden im Thierkörper vielfach sehr deutliche Kapseln, unter anderen that dies constant der früher von mir beschriebene Streptokokkus longus murisepticus. Aber auch von anderen Autoren sind solche Kapseln bei langen Streptokokken beobachtet, so von *Pasquale* [60]) und *Bordet.* [7]) Der letztere scheint denselben sogar eine besondere Aufgabe beizumessen, deren wesentlichste Punkte ich hier kurz wiedergeben möchte. *Bordet* beobachtete, dass nach intraperitonealer Injection von Bouillonculturen des Streptokokkus longus *(Marmorek)* sich einzelne der in die Bauchhöhle eingebrachten Kokken mit einer Kapsel umgaben, und dass gerade diese Streptokokken es waren, die der Aufnahme durch die Leukocyten Widerstand entgegensetzten. Diese kapselführenden Streptokokken waren es ausschliesslich, die zu einer intensiven Vermehrung gelangten und so den Tod der Thiere herbeiführten. *Bordet* hegt deshalb die Vermuthung, dass diese Kapsel etwas mit der von ihm angenommenen, auf die Leukocyten negativ chemotaktisch wirkenden Substanz zu thun habe, respective dass sie diese Substanz selbst darstelle.

Dieser Auffassung kann ich aus dem Grunde nicht ganz beipflichten, weil auch nicht kapselführende Streptokokken in ganz gleichem Grade wie jene der Phagocytose Widerstand entgegensetzen können. Dagegen scheint mir eine besondere, an genuinem Eiweiss reiche Beschaffenheit des Nährbodens eine von den Bedingnissen der Kapselbildung zu sein. Wenigstens sah ich manche Streptokokken in ganz junger Cultur auch extra corpus Kapseln bilden, wenn sie auf Serum gezüchtet wurden. Auch *Pasquale* scheint ähnliche Beobachtungen gemacht zu haben.

Wenn ich somit die *Bordet*'sche Auffassung hinsichtlich der Bedeutung der Kapseln als zu weit gehend erachte, so möchte ich dieselben doch auch nicht als gleichwerthig den Hüllen ansehen, die der Vereinigung der Kokken untereinander dienen. Solche Hüllen können bisweilen die Kokken schlauchartig umgeben, wie ich das bei einer aus der Mundhöhle gezüchteten, dem von *Friedrich* [25]) beschriebenen Strepto-

dieselben abzugeben. Alles in allem muss diese Art Kapseln als aus anderen Substanzen bestehend und für andere Functionen bestimmt angesehen werden als die schleimige Hüllsubstanz in den Zooglöen und Conglomeraten.

Länge und Gestalt der Ketten waren die Kriterien, auf die hin *Kurth*[37]) und ich eine Eintheilung der Streptokokken anzubahnen versuchten. Es ist nun ohneweiters zuzugeben, dass eine Eintheilung organischer Gebilde wechselnder Grösse auf Grössenmasse hin an sich etwas Bedenkliches hat. Im Bewusstsein dieser Schwierigkeit fügte ich deshalb noch eine Reihe anderer Kriterien, so das Peptonisirungsvermögen, das Kartoffelwachsthum und das Verhalten gegen Blutserum hinzu. Gleichwohl hat die Eintheilung in kurze und lange Streptokokken verschiedentlich Verwirrung hervorgerufen, und ich möchte deshalb hier noch einmal eingehender auf die wesentlichsten Punkte zurückkommen. Zunächst muss man sich hier darüber klar werden, was man unter lang und was man unter kurz verstehen will. Ich verstehe unter kurzen Ketten solche, die zwischen 2 und 6, allerhöchstens und ausnahmsweise 8 Kokken enthalten, und unter langen alle solche, die durchschnittlich eine grössere Gliederzahl haben. Diese Grössenmasse kommen für die Beurtheilung nur in Betracht, wenn zur Cultur eine Bouillon von bestimmter Zusammensetzung Verwendung findet. Es soll dies eine schwach alkalische Fleischbouillon mit einem Peptongehalt nicht über 1·5% sein.

Unter solchen Verhältnissen bilden nun nach meinen früheren Angaben die langen Streptokokken lange, die kurzen Streptokokken kurze Ketten. Aenderte man den Nährboden, wenn auch nur durch Erhöhung des Peptongehaltes, so konnten auch die langen Streptokokken kurze Ketten bilden[44]), züchtete man dagegen auf Blutserum, so konnten auch die kurzen Streptokokken lange Ketten bilden.[43]) Im Thierkörper aber wurden der Regel nach, wenigstens wenn es sich um ganz acute Infectionen handelte, nur kurze Ketten gebildet.

Nun zeigte sich aber, dass auch unter Berücksichtigung der angeführten Cautelen Ausnahmen von der Regel eintraten, die den Werth des Grössenkriteriums ganz illusorisch zu machen schienen. So berichteten eine Reihe von Autoren, wie Streptokokken mit anfänglich langer Kettenbildung durch Thierpassage in solche mit kürzeren übergegangen waren, und umgekehrt konnten *Kruse* und *Pansini*[35]) den für gewöhnlich in Diplokokken auftretenden *Fränkel*'schen Pneumokokkus zu so langen Ketten heranzüchten, dass er nicht mehr von langen Streptokokken unterschieden werden konnte. Aus meiner eigenen Erfahrung werde ich noch auffälligere Beispiele für die Variabilität der Kettenlänge anzuführen haben.

So habe ich den schon erwähnten, aus einer menschlichen Sepsis stammenden Streptokokkus longus Nr. 3 der Tabelle in eine ausschliesslich in feinen Kokken wachsende Form umgewandelt. Dieser Diplokokkencharakter blieb dem Streptokokkus durch mehrere Monate eigen, bis es durch geeignete Züchtung und Thierpassage, auf die ich noch zurückzukommen habe, gelang, die ursprünglich langkettige conglomerirende Form in aller Deutlichkeit wiederherzustellen. Umgekehrt habe ich einen *Fränkel*'schen Diplokokkus durch Züchtung auf Zuckerbouillon, wobei auf eine genaue Neutralisirung der in grossen Mengen gebildeten

Säuren geachtet werden musste, innerhalb weniger Tage in eine langkettige Form umgewandelt.

Eine nähere Analyse dieser Umzüchtungen zeigt nun weiter, dass es sich hier keineswegs um ein rein äusserliches und zufälliges Naturspiel handelt, sondern dass diesen Vorgängen eine deutlich nachweisbare Gesetzmässigkeit zugrunde liegt. Wenn ich bei dem zuerst gewählten Beispiele des Streptokokkus Nr. 3 bleibe, so handelte es sich hier um eine von Haus aus langkettige conglomerirende Form, die nach ihrer Reincultivirung sich als höchst virulent für Mäuse und Kaninchen erwiesen hatte. Dieselbe war dann durch $1\frac{1}{2}$ Jahre ausschliesslich auf künstlichen Nährböden (Agar) weiter gezüchtet, wodurch sich zwar ihr morphologischer Charakter wenig geändert hatte, die Virulenz aber so weit heruntergegangen war, dass es mehr als 5 Ccm. einer frischen Bouilloncultur bedurfte, um bei intraperitonealer Injection ein mittelgrosses Kaninchen zu tödten, während Meerschweinchen auch nach Application noch grösserer Mengen keine Krankheitserscheinungen zeigten. Eine zweitägige Bouilloncultur dieses Streptokokkus wurde nun centrifugirt und der Bodensatz von 150 Ccm. einem Meerschweinchen intraperitoneal injicirt. Das ziemlich kokkenreiche Exsudat des hieran verendeten Thieres wurde nun wieder mit den abcentrifugirten Streptokokken von 100 Ccm. Bouilloncultur gemischt und einem zweiten Meerschweinchen intraperitoneal injicirt. Aus dem Bauchhöhlenexsudate dieses Thieres konnte nun ein Streptokokkus gezüchtet werden, der auf Bouillon ein kümmerliches Wachsthum zeigte, gut dagegen auf Serumbouillon (zwei Theile Bouillon, ein Theil Pferdeserum) wuchs, und zwar mit diffuser Trübung und unter ausschliesslicher Bildung feiner, den *Fränkel*'schen Pneumokokken ähnlicher Diplokokken. Auf Gelatine trat kein, auf Agar nur geringfügiges Wachsthum in Form feinster runder Pünktchen mit glattem Rande und leicht granulirtem Gefüge ein. Weiter aber war diese Streptokokkenform, die sich als Streptokokkus longus Nr. 3 x*) bezeichnete, dadurch ausgezeichnet, dass die Culturen schnell abstarben und ihre Virulenz in einigen Tagen einbüssten, Eigenschaften,

kokkus longus 3 gehandelt hatte, die dadurch zustande gekommen war, dass auf den durch langes Züchten auf künstlichem Nährboden geschwächten, sozusagen labil gewordenen, Streptokokkus die energisch baktericiden Kräfte des Meerschweinchenkörpers eingewirkt hatten. Durch Versuche in der gleichen Richtung mit anderen Streptokokken konnte ich mich später überzeugen, dass solche α-Formen sich von einer ganzen Reihe Stämmen des Streptokokkus longus herstellen lassen, und zwar nach dem bereits angegebenen Schema, dass man dieselben in geschwächtem Zustande, aber in grosser Individuenzahl auf widerstandsfähige Thiere (Meerschweinchen, Ratten) einwirken lässt. Die Rückverwandlung in die lange Form gelingt häufig von vornherein nicht durch die Thierpassage, wohl aber nach vorausgeschickter Züchtung auf geeignetem Nährboden (Druckbouillon, Kaninchenserum).

Nun bedeutet aber an sich ja die Diplokokken- oder kurze Form keinen degenerativen Zustand gegenüber der langen Form. Sie kann im Gegentheil sogar die physiologisch leistungsfähigere Form darstellen. Dies zeigt sich z. B. an dem Beispiel von den *Fränkel*'schen Kokken, die vor der Cultivirung auf Zuckerbouillon hoch virulent waren, nachher aber — in der Form der langen Ketten — sich als unvirulent erwiesen. Ich könnte als analoges Beispiel noch den Streptokokkus brevis Nr. 12 erwähnen, der aus einer diphtherischen Pseudomembran gewonnen war. Dieser Streptokokkus, vielleicht identisch mit den von *d'Espine* und *Marignac* aus Scharlach gezüchteten Streptokokken, von denen er sich aber durch hohe Giftigkeit unterschied, zeigte nach Passage des Meerschweinchens lange Streptokokkenformen, aber unter Einbusse seiner Virulenz. Auch hier liessen sich noch weitere Beispiele anführen, dass für manche Formen gerade die lange Kettenform in pathogener Beziehung die weniger leistungsfähige darstellt.

Wir kommen nach alledem mit Nothwendigkeit zu dem Schluss, dass im pathogenen Zustande das morphologische Substrat für den einen Streptokokkus die lange Form ist, für den anderen die kurze. Hienach halte ich das Eintheilungsprincip in lange und kurze Streptokokken für gerechtfertigt, allerdings aber unter Berücksichtigung des pathogenen Verhaltens. Aus diesem Grunde möchte ich den Zusatz „pathogenes“ zu Streptokokkus longus, wie er sich schon in dem *Flügge*schen Lehrbuch (Mikroorganismen, 3. Aufl.) vorfindet, für ganz zweckmässig halten.

Um im concreten Falle zu entscheiden, ob ein Streptokokkus longus oder brevis vorliegt, wird man also vielfach genöthigt sein, das Thierexperiment und eventuell noch geeignete Nährböden zu Hilfe zu nehmen. Ergibt sich hier, dass mit steigender Virulenz die kurze Form eintritt, so handelt es sich um einen Streptokokkus brevis, im anderen Falle um einen Streptokokkus longus.

Verfährt man in dieser Weise, so erweist sich bald eine ganze Reihe von zunächst als kurze Streptokokken imponirenden Formen als abgeschwächte, respective degenerirte lange Streptokokken. Namentlich aus länger andauernden pathologischen Processen, aus alten Abscessen, Endokarditiden etc., kurzum da, wo die baktericiden Einflüsse des Körpers lange eingewirkt haben, lassen sich solche Streptokokken züchten und sind dann vielfach auch in der Literatur als besondere Species des Streptokokkus brevis beschrieben worden.

Ausser gewissen Ausmassen in der Kettenlänge zeigen die Streptokokken Eigenthümlichkeiten in der Krümmung und Anordnung der Ketten. Es sind das die Kriterien, auf die *Kurth* in seiner Eintheilung Werth legte. Er unterschied die wenig gliedrigen geraden von den reichgliedrigen geschlängelten Formen und theilte die letzteren wieder je nach dem Grade der Schlängelung und Verfilzung in verschiedene Unterabtheilungen. Diese verschiedenen Wuchsformen sind jedoch keineswegs constant genug, um darauf Varietäten innerhalb des Streptokokkus longus abgrenzen zu können. Mit solchen Versuchen wird man, wie ich schon eingangs bemerkte, warten müssen, bis sich andere Kriterien, vielleicht auf Grund specifischer Serumreactionen, ergeben haben.

Was schliesslich die Färbbarkeit betrifft, so nimmt der Streptokokkus longus (pathogenes) die *Gram*'sche Färbung an, allerdings in verschiedener Intensität. Formen, die sich auch bei vorsichtiger Behandlung völlig entfärben, zeigen auch in ihrem übrigen Verhalten, der Pathogenität, dem Aussehen des Kornes und der Colonieen, Unterschiede, die ihre Zugehörigkeit zu der hier betrachteten Gruppe der langen Streptokokken unwahrscheinlich machen.

Culturelle Kriterien.

Während in den ersten Mittheilungen über Züchtungen von Streptokokken aller Nachdruck auf das Aussehen der Culturen auf festen Nährböden gelegt war, glaubten *Kurth* und ich gerade in der Bouillon das Medium vor uns zu haben, in dem die Streptokokken charakteristische Formen annehmen. Ueber das mikroskopische Aussehen der Streptokokken in Bouillon habe ich oben berichtet. Zwischen diesem und dem makroskopischen Verhalten besteht ein naheliegender Zusammenhang, indem die Culturen, welche im mikroskopischen Bilde mehr einzelne frei liegende Kokken und Ketten erkennen lassen, die Bouillon mehr gleichmässig trüben, während die conglomerirenden Formen auch makroskopisch unter völligem oder theilweisem Klarbleiben der Bouillon Flöckchen, Bröckel etc. zu bilden pflegen. Je nach dem Grade

24stündigem Wachsthum eine völlig klare Bouilloncultur mit sandigem Bodensatze lieferte.

Für manche Zwecke erweisen sich Zusätze zu der gewöhnlichen Fleischbouillon als nützlich. Hiezu gehört in erster Linie der Traubenzucker. Für manche Streptokokkenformen scheint derselbe sogar unerlässlich zu sein. So gelang es *Behring* zuerst auf einer Traubenzuckerbouillon den von *Schütz* [72]) bei der Druse der Pferde gefundenen Streptokokkus zu cultiviren. Ebenso sollen die von *Hirsh* [26]) bei der Säuglingsenteritis gefundenen Streptokokken nach diesem Autor eines Zuckerzusatzes zu ihrem Wachsthum bedürfen.

Das Aussehen der Culturen auf Zuckerbouillon ist dem auf gewöhnlicher Fleischbouillon fast gleich, nur meist üppiger. Ausserdem erscheint die Neigung zur Conglomeratbildung ausgesprochener. *Pane* [58]) wollte hier Verschiedenheiten zwischen den aus Erysipelen und den aus Eiterungen stammenden Streptokokken gefunden haben. Die ersteren sollten bei einem Zuckergehalt von 0·01% trüben, dies aber nicht thun bei einem Gehalt von 0·1% und darüber, während die letzteren entweder constant trübten oder gar nicht. Viel ist mit diesem Kriterium nicht anzufangen, da nach meiner Erfahrung alle langen Streptokokken, gleichviel welcher Herkunft, bei einem Zuckergehalt von 0·05—0·2% grössere Neigung haben, die Bouillon klar zu lassen — eben infolge der oben erwähnten erhöhten Fähigkeit, Conglomerate zu bilden. Es sei noch bemerkt, dass Virulenz und Uebertragbarkeit auf den Zuckerculturen in der Regel schneller schwinden als auf gewöhnlicher Fleischbouillon — wahrscheinlich eine Folge des hohen Aciditätsgrades solcher Culturen. Zusätze von Blutserum erleichtern nicht nur manchen geschwächten Formen das Wachsthum, wie z. B. den α-Streptokokken, sondern sie conserviren auch länger das Leben und die Virulenz der Culturen. Vielfach beobachtet man in solchen Serumbouillonculturen feinkörnige Fällungen, die sich nach längerem Wachsthum dann als voluminöse Niederschläge zu Boden setzen können. Bei Arten, die Neigung zur Zooglöenbildung an der Oberfläche haben, treten dieselben dann vorwiegend auf dieser ein und führen zu Bildern, wie sie *Kurth* als charakteristisch für seinen Streptokokkus involutus [38]) beschreibt. Eine ausschliessliche Folge der Säurebildung können diese Ausfällungen nicht sein, da der Zusatz von sauren Zuckerbouillonculturen zu Serum keine derartigen Erscheinungen hervorruft.

Mehr noch als Serum und Serumbouillongemische leistete mir vielfach zur Gewinnung kräftiger und virulenter Formen eine Bouillon, die ich als Druckbouillon bezeichnete und die durch Auskochen des Fleisches bei 150° C. im Autoclaven hergestellt wurde. Ein Kilogramm fein gehacktes möglichst sehnen- und fettfreies Fleisch wurde mit zwei Liter Wasser verrührt, nach Zugabe von 20 Grm. Pepton Witte und 10 Grm. Kochsalz in den Autoclaven gebracht und unter Umrühren zum Kochen gebracht. Hierauf wurde der Apparat geschlossen und auf 150° C. eingestellt. Nach einer Stunde wurde die Flamme entfernt, der Apparat erkalten gelassen und der Inhalt filtrirt. Sodann wurden 10—20 Ccm. Normalnatronlauge zugesetzt, nochmals gekocht und wieder filtrirt. Man muss darauf achten, dass das Fleisch nicht zu sehnig ist. Im anderen Falle wird die Bouillon leicht gallertig und muss dann verdünnt werden, wodurch sie für ihre Zwecke verliert.

gelang es *Roger*[68]) mit filtrirten Erysipelculturen Kaninchen zu tödten, wenn er ihnen pro 1 Kgrm. 13—20 Ccm. in die Blutbahn spritzte. Bessere Präparate will *Marmorek*[49]) erhalten haben, indem er seinen, aus einer diphtherischen Pseudomembran isolirten Streptokokkus sehr lange Zeit (bis $^1/_4$ Jahr) auf Menschenblutserum cultivirte. Filtrate solcher Culturen tödteten schon in Mengen von 1 Ccm. 2 Kgrm. schwere Kaninchen in 3—4 Tagen. *Laitinnen*[40]) züchtete Streptokokken, die aus Phlegmonen gewonnen waren, auf Bouillon mit hohem (3%) Peptongehalt und fällte nachher mit Ammoniumsulfat aus. Er gewann so Gifte, die mittelgrosse Kaninchen in Mengen von 0·1—0·5 Grm., intraperitoneal injicirt, tödteten. Es erscheint mir bei der damals von dem Autor gewählten Darstellungsmethode nicht sicher, ob hier nicht lebende Keime bei dem Tode der zur Giftprüfung benutzten Thiere mitgewirkt haben. Hiefür scheinen auch die Prüfungsresultate selbst zu sprechen, indem einigemale auf kleine Dosen der Tod früher eintrat als auf viel grössere. *Schenk*[71]) konnte mit 1—2 Ccm. filtrirter Bouilloncultur Mäuse von 25 Grm. tödten. Blut und Organe der getödteten Thiere erwiesen sich hier als völlig steril. Das stärkste wohl bis dahin dargestellte Streptokokkengift dürfte das von *Marmier*[78]) gewesen sein, eine Alkoholfällung, die dieser Autor nach seiner für die Herstellung von Milzbrandgiften als geeignet befundenen Methode gewonnen hat. Hievon soll 0·01 Grm. ein Kaninchen getödtet haben.

Auch nach meinen Versuchen ist es unzweifelhaft, dass man auf Streptokokken stösst, die wenigstens zeitweise eine deutliche Giftbildung erkennen lassen. Ich habe solche aus Abscessen, Endokarditis, sowie einigen Phlegmonen isolirt. Die Filtrate dieser Culturen lieferten immerhin so viel Gift, dass man mit 10—15 Ccm. bei intraperitonealer Injection Kaninchen von 1000 Grm. Gewicht tödten konnte. Es waren dies alle mittellangkettigen, die Bouillon trübenden Formen, die aus länger dauernden Processen stammten und für Thiere wenig pathogen waren. Die giftbildende Fähigkeit hielt sich jedoch nur durch einige Generationen und ging auch besonders dann schnell verloren, wenn es gelang, eine höhere Virulenz für Thiere herzustellen.

konnten, die durch ihr morphologisches Verhalten wie durch ihre giftbildende Fähigkeit Interesse darboten. Die hieher gehörigen Versuche habe ich der Uebersichtlichkeit wegen in tabellarischer Form zusammengestellt.

Datum des Versuches	Bezeichnung und Gewicht des Meerschweinchens	Das Thier erhielt durch intraperitoneale Injection	Resultat der Einspritzung	Beschaffenheit der aus dem Exsudat gewonnenen Bouilloncultur		
				morphol.	virulente	giftige
4./III. 97	Nr. 634 $\mathfrak{M}.^{540}$ *)	Bodensatz von 150 Ccm. 2tägiger Bouilloncultur des Str. longus Nr. 3 in 4 Ccm. Kochsalzlösung	+ 5./III. In der Bauchhöhle ca. 3·5 Ccm. Exsudat mit mässig zahlreichen mittellangen Strept.	Kümmerlich gewachsene leicht getrübte Cultur		
5./III. 97	Nr. 666 $\mathfrak{M}.^{340}$	Exsudat von Nr. 634. + Strept. von 100 Ccm. Bouilloncultur Str. longus Nr. 3	+ 6./III. In der Bauchhöhle ca. 4 Ccm. Exsudat, das zahlreiche kurze Strept. enthält	Wie oben		
6./III. 97	Nr. 657 $\mathfrak{M}.^{250}$	Exsudat von Nr. 666	+ 7./III. In der Bauchhöhle ca. 2 Ccm. Exsudat mit zahllosen feinen Diplo- und Streptokokken	Auf Serumbouillon (1 Theil Pferdeserum, 2 Theile Bouillon) reichlich diffuses Wachsthum freier Diplokokken	5 Ccm. tödten bei intraperitonealer Injection mittelschwere Meerschweinchen	5 Ccm. des Filtrates tödten Kaninchen von 800—1000 Grm. bei intraperitonealer Injection in 16 Stunden
7./III. 97	Nr. 665 $\mathfrak{M}.^{340}$	Exsudat Nr. 657	+ 9./III. In der Bauchhöhle ca. 0·5 Ccm. Exsudat mit wenigen, zum Theil schlecht färbbaren Strept.	Auf Serumbouillon ziemlich zahlreiches Wachsthum von Diplokokken	5 Ccm. tödten nicht mit Sicherheit	5 Ccm. tödten nicht mehr Kaninchen von 800—1000 Grm.

Der Streptokokkus longus hatte sich hier also im Verlaufe einiger Thierpassagen in eine ganz kurz wachsende Diplokokkenform umgewandelt. Dieselbe war weiterhin dadurch ausgezeichnet, dass sie auf gewöhnlicher Bouillon nur kümmerlich, üppig dagegen auf Serumbouil-

*) $\mathfrak{M}.^{540}$ bedeutet in den Bezeichnungen nach *Behring* ein Meerschweinchen von 540 Grm. Körpergewicht, $\mathfrak{K}.^{1000}$ in derselben Weise ein Kaninchen von 1000 Grm. Körpergewicht.

longemischen wuchs, sowie durch die im Vergleich zu anderen Streptokokken grosse Vergänglichkeit. Giftbildend waren vorwiegend die von Meerschweinchen Nr. 657 sich ableitenden Culturen, die ich als α-Streptokokkus longus (657) bezeichnete. Bevor ich zu den so gewonnenen Giftkörpern übergehe, möchte ich nochmals auf die bereits früher gemachte Bemerkung hinweisen, dass ich alle diese α-Formen später durch Wechsel des Nährbodens (Druckbouillon, Kaninchenserum) und nachfolgende Thierpassage unter Erhöhung der Virulenz wieder in die ursprüngliche langkettige Form zurückverwandeln konnte. Speciell bei dem Streptokokkus Nr. 3 wurde die Virulenz später so gesteigert, dass Meerschweinchen nach Mengen von 0·001 Ccm. in 16 bis 24 Stunden erlagen. Diese hochvirulenten Formen aber zeigten, ebenso wie die Ausgangscultur, in ihren Filtraten keinerlei Giftbildung.

Um Gifte in grösseren Mengen zu erhalten, wurden Literkolben zur Hälfte mit Serumbouillon (1 Theil Pferdeserum, 9 Theile gewöhnliche Fleischbouillon) beschickt, mit dem α-Streptokokkus Nr. 3 (657) beimpft und 14 Tage bei Bruttemperatur gehalten. Die Giftigkeit der so gewonnenen Culturfiltrate stellte sich wie folgt:

Datum	Bezeichnung und Gewicht des Thieres	Dosis und Applicationsweise	Resultate
22./III. 97	Nr. 34 ℜ. 750	5 Ccm. intraperitoneal	Stirbt nach 10 Stunden unter Krämpfen. Blut und Organe steril
23./III. 97	Nr. 37 ℜ. 1000	2·5 Ccm. intraperitoneal	Nimmt in 3 Tagen 50 Grm. ab, stirbt am 24./IV. Blut und Organe steril
23./III. 97	Nr. 40. ℜ. 2000	10 Ccm. intraperitoneal	Nimmt 120 Grm. ab, stirbt am 13./IV. Blut und Organe steril

Datum	Bezeichnung und Gewicht des Thieres	Dosis und Applicationsweise	Resultate
28./III. 97	Nr. 43 K. 1550	0·05 Grm. intraperitoneal	30 Grm. Gewichtsabnahme; Thier überlebt
29./III. 97	Nr. 44 K. 900	0·1 Grm. intraperitoneal	Thier nimmt in 6 Tagen 100 Grm. ab, hat niedere Temperatur (36°—37°) † 6./IV.
30./III. 97	Nr. 50 K. 1100	0·5 Grm. subcutan	Sehr starke weiche Schwellung an der Injectionsstelle; † 2./IV.
1./IV. 97	Nr. 53 K. 1200	0·2 Grm. intraperitoneal	† 2./IV., starke Röthung der Darmschlingen, etwas Exsudat in der Bauchhöhle
1./IV. 97	Nr. 687 M. 320	0·2 Grm. intraperitoneal	† 2./IV., etwas Exsudat in der Bauch-, reichlicheres in der Brusthöhle.

Es entsprachen also etwa 0,2 Grm. des festen Präparates 5 Ccm. des flüssigen Culturfiltrates. Wäre durch die Ueberführung in die feste Form kein Gift verloren gegangen, so hätten ca. 0,07 Grm. der tödtlichen Dosis entsprechen müssen. Dieser Giftverlust kommt etwa zur Hälfte auf die Erhitzung, zur anderen Hälfte auf die Alkoholfällung.

Es wurden deshalb Versuche mit anderen Fällungsmitteln, die die Erhitzung überflüssig machten, angestellt. Unter anderem habe ich Fällungen mit Ammonium- und Magnesiumsulfat versucht. Aber auch hier machte sich das in der Culturflüssigkeit vorhandene Serum in störender Weise geltend, indem die Fällungen kaum löslich waren. Zugleich war die Ausbeute quantitativ viel geringer als nach dem Alkoholverfahren und dabei die Qualität nicht besser.

Die Krankheitserscheinungen bestehen bei subcutaner Einverleibung der Gifte in einer mehr oder minder starken Schwellung in der Umgebung der Injectionsstelle, Fieber und meist profusem Durchfall. War die Dosis nicht stark genug, um die Thiere acut in 24—36 Stunden zu tödten, so trat starke Abmagerung ein und häufig eine durch Tage anhaltende Herabsetzung der Körpertemperatur um 1,5°, ja 2° C. Hält dieser Zustand länger an, so treten häufig Secundärinfectionen hinzu, die den Tod beschleunigen. Bei intraperitonealer Einverleibung beträgt die tödtliche Dosis nur ca. $^1/_5$ der bei der subcutanen Injection erforderlichen Menge. Hier setzen die Krankheitserscheinungen viel schneller ein. Schon nach 3—4 Stunden erscheint der Leib aufgetrieben, das Thier wird sehr schwach und verendet häufig schon nach 3—4 Stunden unter Krämpfen. Der Obductionsbefund bei den vergifteten Thieren weist ausser entzündlichen Erscheinungen an der Eingangspforte des Giftes wenig Bemerkenswerthes auf.

Als Wirkung löslicher Gifte hat man vielfach auch eine Reihe nervöser Veränderungen aufgefasst, die sich namentlich im Anschluss an chronischer verlaufende, durch abgeschwächtes Material hervorgerufene Injectionen einstellten. Es handelt sich bei Kaninchen namentlich um progressive Muskelatrophien der hinteren Extremitäten, die häufig erst mehrere (3—4) Wochen nach der Infection einsetzen.

Bei der Autopsie solcher Thiere fand *Roger*[68]) Erkrankungen der Vorderhornzellen, die er wie folgt beschreibt: „Ces cellules sont tuméfiées; leurs prolongements ont disparu; le protoplasma subit la dégénérence vacuolaire, et le noyau, après avoir résisté quelque temps, finit par disparaître à son tour.“ Auch *Widal* und *Besançon*[77]) beobachteten bei einer Reihe von Kaninchen (bei 7 unter 116 inficirten) paralytische Erscheinungen, als deren Ursache sie bestimmte Myelitiden nachweisen konnten. *Laitinnen*[40]) sowie *Homén*[29]) injicirten lebende Streptokokken sowie lösliche Gifte in das Rückenmark und den N. ischiadicus. Sie konnten dann Veränderungen der Nervenfasern, der Vorderhirnzellen und bisweilen auch der spinalen Ganglien feststellen. Sehr auffallend dürften diese Resultate bei der Versuchsanordnung jener Autoren nicht zu nennen sein. Es kommt doch schliesslich darauf an, ob die Affinität der Streptokokkengifte zu gewissen nervösen Elementen so gross ist, dass sie auch bei Infection von einem anderen Orte aus, also auch bei subcutaner oder intraperitonealer Injection, bemerkbar wird oder nicht. In meinen Versuchen konnte ich nur mit einem Gifte hierhergehörige Erscheinungen hervorbringen, und zwar bei Mäusen. *) Injicirte ich von diesem Gifte die minimalsten Mengen (0,0001 bis 0,0005 Grm.), so begannen die Thiere nach 2—3 Wochen abzumagern und etwas struppig auszusehen. Zugleich wurden die Hinterschenkel atrophisch und schlaff. Im weiteren Verlaufe kam es dann zu Nekrosen, die distal beginnend schliesslich dem ganzen Gliede ein völlig vertrocknetes Aussehen verliehen. Ungefähr 5—6 Wochen nach der Injection trat der Tod ein. Blut und Organe zeigten keinerlei Mikroorganismen.

Eine ausreichende Erklärung für die krankmachende und tödtliche Wirkung der lebend in den thierischen Organismus eingebrachten virulenten Streptokokken vermögen alle bis dahin dargestellten Gifte nicht zu geben. Um so weniger kann dies der Fall sein, als gerade die aus schweren Processen stammenden und hochvirulenten Culturen auf unseren Nährböden meist auch nicht die Spur einer Giftbildung erkennen lassen. Nun darf man ja allerdings an Organismen von der Wirkungsweise der

Aehnliche negative Befunde, wie wir sie hinsichtlich der Giftproduction bei den Streptokokken zu verzeichnen haben, führten seinerzeit bei der Cholera wieder zu der schon früher von *Virchow* verfochtenen fermentativen Theorie. Namentlich *Hüppe* vertrat hier die Anschauung, dass manche Bakterien nur auf genuinen Eiweisskörpern und unter Luftabschluss giftig würden, und zwar durch Bildung specifisch giftiger Spaltungsproducte. Was sich für die Cholerabacillen als Täuschung erwies, konnte für die Streptokokken richtig sein. Für das geeignete genuine Eiweiss musste man hier wohl das Blut halten. Ich züchtete also virulente Streptokokken auf Kaninchenblut, sowohl unter Luftzufuhr wie unter Luftabschluss, und filtrirte dann durch Thonfilter. Um aber auch diese zu umgehen bei der Möglichkeit, dass hierdurch vielleicht die giftigen Stoffe zurückgehalten würden, habe ich später durch anhaltendes Centrifugiren die Cultur keimfrei zu machen gesucht. Einige Male gelang dies, wenigstens nach Verdünnung mit Wasser, und für die obersten Schichten. Aber auch von solchen Flüssigkeiten vertrugen Mäuse bei intraperitonealer Injection 0·5 Ccm. ohne deutliche Krankheitserscheinungen.

Giftwirkungen der Streptokokkenleiber.

Die in den Filtraten von Streptokokkenculturen nachweisbaren Giftstoffe vermögen nach den Angaben im vorigen Abschnitt in quantitativer Beziehung nicht die Wirkungen der Infection mit lebendem virulentem Material zu erklären. Es musste deshalb weiterhin die Giftigkeit des Streptokokkenprotoplasmas untersucht werden. Zu diesem Zwecke wurden virulente Bouillonculturen nach dreitägigem Wachsthum bei Brüttemperatur abcentrifugirt und durch eine zwei- bis dreistündige Erwärmung auf 65° C. abgetödtet.*) Beziehe ich die injicirten Mengen wieder auf das Blutvolumen der zur Prüfung verwandten Kaninchen, so konnte ich die Streptokokken von dem Fünffachen desselben, ohne irgend welche deutlicheren Krankheitserscheinungen zu verursachen, intraperitoneal verabreichen. Ich konnte also beispielsweise einem Kaninchen von 1000 Grm. Körpergewicht die Streptokokken von 500 Ccm. reichlich gewachsener Bouilloncultur einverleiben, ohne es in seinem Wohlbefinden sichtlich zu beeinträchtigen. Ueberträgt man diese Angaben in das absolute Gewicht, so ergibt sich Folgendes: Die Streptokokken von 1 Liter gut gewachsener dreitägiger Bouilloncultur (ohne Zuckerzusatz) haben ein Gewicht von ca. 0,12—0,2 Grm. Auf 1000 Grm. Kaninchengewicht konnte ich also schadlos 0,06—0,1 Grm. abgetödteter Streptokokken geben. Bei intracerebraler Injection gehen die Kaninchen

*) In meinen früheren diesbezüglichen Angaben habe ich eine niedrigere Temperatur (60° C.) und viel kürzere Einwirkungsdauer als ausreichend zur Abtödtung angegeben. Der Unterschied erklärt sich daraus, dass ich die früheren Versuche mit kleinen Culturmengen (Reagenzglasculturen), die oben angegebenen aber mit den Bodensätzen von ganzen Litern angestellt habe. Ferner habe ich früher die mangelnde Uebertragbarkeit auf Bouillon als Criterium für die gelungene Abtödtung benutzt, während ich später noch das Thierexperiment zu Hilfe nehmen musste. Aus diesen Differenzen in der Versuchsanordnung dürfte sich auch der Mangel an Uebereinstimmung mit den *Marmorek*schen Angaben grossentheils erklären, nach denen schon eine einstündige Erwärmung auf 55° C. zur Abtödtung ausreicht. Nach diesem Autor sollen auch Chloroform und Thymol Streptokokken schnell abtödten, was ich, wenigstens soweit die erstere Substanz in Frage kommt, keineswegs bestätigen kann.

[illegible] zu relativ kleinen Mengen ein. Die tödtliche Dosis betrug hier ca. 0,0025 Grm. pro Kilogramm Kaninchen. So behandelte Thiere liessen die ersten 6–10 Stunden ausser einer anhaltenden Temperaturherabsetzung von 1–1,5°, meist keine Krankheitserscheinungen merken. Erst nach Ablauf dieser Zeit werden die Thiere krank, um dann aber auch meist sehr schnell zu verenden. Immerhin ist aber auch eine Menge von 0,0025 Grm. entsprechend ca. 10 Ccm. Cultur für die intravenöse Injection eine recht erhebliche Menge.

Nun musste sich allerdings auch *Pfeiffer* bei der Erklärung der Choleragiftwirkungen mit einem Missverhältniss in der Wirkung lebender und abgetödteter Bacillen abfinden. Er supponirte deshalb in den lebenden Bacillen ein primäres sehr giftiges und sehr empfindliches Princip, aus dem, nach Abtödtung der Bacillen, das secundäre, dasjenige, was seine Choleragifte darstellte, hervorging. Das primäre Gift war dasjenige, das der Körper bei der Infection mit lebendem Material den Cholerabacillen entnahm. Diese Hypothese konnte bei der Cholera immerhin plausibel erscheinen, weil sich hier thatsächlich ein schneller Untergang von Bacillen und damit eine Quelle wenigstens sicher nachgewiesener Gifte erweisen liess. Bei den Streptokokken liegt die Sache aber aus dem Grunde wesentlich anders, als man hier bei der acuten Infection und soweit das Thierexperiment in Betracht kommt, absolut keinen Anhalt für die Annahme einer schnellen Auflösung der Kokken vorfindet. Man kann auch bei Streptokokkeninfectionen, wie ich später noch zeigen werde, Auflösungsphänomene im grossen Massstabe beobachten, aber nur unter ganz besonderen Verhältnissen, nämlich beim Spättode widerstandsfähiger Thiere. Bei der ganz acut verlaufenden Infection ist nichts derartiges nachweisbar. Hienach fällt meiner Ansicht nach auch für diese Fälle die Möglichkeit fort, auf dem Wege einer massenhaften Auflösung der Streptokokkenleiber die Giftwirkungen bei der Erkrankung zu erklären.

Ich glaube, dass man nach alledem die Vorstellung nicht von der Hand weisen kann, dass die Giftwirkungen der Streptokokken an das

nung geschütztem Blute derselben Thierart beschickt sind, so beobachtet man nach Einstellen der Röhrchen in den Thermostaten dieselbe Erscheinung. Häufig schon nach Verlauf von 3—4 Stunden beginnt sich das bis dahin hellgelbe Plasma roth zu färben, und nach Verlauf von 24 Stunden ist dann ein grösserer Theil des Hämoglobins in eine purpurrothe Lösung übergegangen. Nach Verlauf von noch längerer Zeit wird dieselbe mehr bordeauxfarben, schliesslich unter Bildung von Niederschlägen schmutzigbraun.

Untersucht man diese Auflösungserscheinungen, auf die als Obductionsbefund auch *Bordet* [7]) aufmerksam macht, in den verschiedenen Phasen, so scheint sich zuerst das Hämoglobin vom Stroma zu trennen. Wenigstens kann man anfangs noch die meisten Blutscheiben mit völlig erhaltenen Contouren durch Jod sichtbar machen. Dann aber unterliegen auch diese Veränderungen, und man gewahrt dann neben einer Anzahl in ihrer Form immer noch mehr oder minder erhaltener Blutzellen einen reichlichen durch Jod gelb färbbaren Detritus, den man als Rest der rothen Blutzellen ansprechen muss.

Manche Culturen, namentlich die frisch aus eiterigen und septischen Processen gezüchteten, bewirken ausser den eben beschriebenen Veränderungen noch eine nachträgliche Gerinnung der Blutmasse. Ob diese mit Auflösungsvorgängen an den noch vorhandenen weissen Blutzellen zusammenhängt, habe ich noch nicht entscheiden können. Jedenfalls fand ich die coagulirenden Wirkungen am stärksten bei eitererregenden Bakterien, wie z. B. dem Staphylokokkus aureus. Bei fortgesetzter Cultivirung verliert sich übrigens jene Fähigkeit bei den Streptokokken meist vollständig und kehrt dann auch weder spontan noch durch Thierpassage wieder.

Hinsichtlich der Veränderungen an den rothen Blutzellen, die ich hier kurz als hämatolytische bezeichnen will, schien es vor allem von Interesse festzustellen, ob dieselben schon intra vitam eintreten und damit eine besondere Bedeutung für den Krankheitsprocess gewinnen könnten. Offenbar lässt sich aber erst dann auf das Vorhandensein derselben rechnen, wenn eine reichliche Streptokokkenentwicklung im Blute eingetreten ist. Diese ist aber auch bei intraperitonealer Injection und hochvirulentem Material erst relativ spät nachweisbar. Bei einer Krankheitsdauer von 24 Stunden findet man 12 Stunden nach der Infection mikroskopisch meist gar keine Streptokokken im Blut. Die Ueberschwemmmung des Blutes mit Streptokokken, wie wir sie nachher bei der Obduction finden, ist das Resultat der allerletzten Lebensstunden. Hieraus ergibt sich, dass wir auch die hämatolytischen Veränderungen erst sub finem vitae — wenigstens so weit das Kaninchen in Betracht kommt — erwarten können. Dem entsprechen denn auch die Experimente.

Ich verfuhr hierbei in der Weise, dass ich aus den Schlagadern der erkrankten Thiere zu verschiedenen Zeiten Blutproben entnahm und dieselben in eine Lösung von citronensaurem Natron (4 Theile Blut auf 1 Theil 5%iges citronensaures Natron und Kochsalz ana) einfliessen liess. Nach der Entnahme wurde sofort centrifugirt. Normales Kaninchenblut sondert sich dann sehr schnell in zwei Theile, einen oberen gelben, das Plasma, und einen rothen sandigen Bodensatz, der die Blutkörperchen enthält. Ebenso wie hier verhielt sich das Blut der inficirten Thiere bis auf die letzten Abnahmen. Erst etwa eine Stunde vor dem Tode zeigten sich deutlichere hämatolytische Veränderungen.

Das Plasma erschien dann rosa und die am Boden befindlichen rothen Blutkörperchen vereinigten sich zu agglutinirenden Massen. Die mikroskopische Untersuchung zeigt dann auch zahlreiche Streptokokken im Blute.

Aus diesen Thatsachen ergibt sich die Würdigung der hämatolytischen Veränderungen für den Krankheitsverlauf. Dieselben treten erst in einem Stadium auf, wo das Schicksal des Thieres ohnehin als besiegelt angesehn werden kann. Für die acute Streptokokkeninfection des Kaninchens sind sie daher ohne Bedeutung. Nicht als ganz so belanglos dürften sie dagegen bei den Streptokokkeninfectionen des Menschen zu betrachten sein. In grossen Mengen treten ja allerdings auch hier die Streptokokken erst kurz vor dem Tode auf, in geringerer Anzahl jedoch häufig in viel früheren Stadien *(Canon, Petruschky)*. Dadurch ist die Möglichkeit einer frühzeitig einsetzenden und damit länger andauernden Einwirkung auf die rothen Blutzellen gegeben. Es erscheint mir deshalb gestattet, in den auf diese Weise denkbaren Zerstörungen der wichtigsten Blutelemente einen der Gründe für die schweren Anämien zu suchen, die im Anschluss an septische Erkrankungen vielfach beobachtet werden. Einen besonders eclatanten Fall dieser Art. bei dem die Zahl der rothen Blutzellen auf 300.000 im Cubikmillimeter zurückgegangen war, beschreibt *Grawitz.* [25])

Was nun das Wesen dieser Vorgänge anlangt, so vermuthete ich anfangs, dass es sich dabei um die Wirkung gewisser von den Streptokokken abgesonderter Stoffe handelte. Diese Anschauung wurde aber dadurch hinfällig, dass es nicht gelang, in den filtrirten Streptokokkenculturen, sei es, dass es sich um solche auf Bouillon, Serum, Plasma oder schliesslich selbst Blut handelte, mehr als Spuren hämatolytisch wirkender Substanzen aufzufinden. Ebenso wenig brachte der Zusatz reichlicher Mengen abgetödteter Streptokokken zu Blut in vitro irgend welche Veränderungen hervor. Also auch hier scheint die Anwesenheit der lebenden Bakterienzelle unerlässlich. Für die Erklärung sind wir damit vor dieselben Möglichkeiten gestellt wie früher bei den toxischen Wirkungen. Ganz unwahrscheinlich wäre auch ein enger Zusammenhang beider in dem Sinne nicht, dass die toxischen und die Blutzellen auflösenden Wirkungen Aeusserungen desselben giftigen Principes wären. Hierfür könnte die leichte Beeinflussbarkeit der hämatolytischen Fähigkeit durch abschwächende Agentien verschiedener Art sprechen. Ein Streptokokkus z. B., der durch eine Thierpassage an Virulenz einbüsste, zeigte auch Abschwächung oder Aufhebung seiner hämatolytischen Energie.

Es sei noch bemerkt, dass ich auch andere Bakterien auf diese Fähigkeiten untersucht habe. Da viele von diesen auf Blut allein ein schlechtes Wachsthum zeigen, so habe ich dasselbe zu gleichen Theilen mit Bouillon verdünnt. Milzbrand-, Typhus-, Cholerabacillen, sowie meine sämmtlichen kurzen Streptokokken und die abgeschwächten Formen meiner langen bewirkten keine irgendwie deutlichen Auflösungserscheinungen. Einige andere Kokkenarten, auf die ich zufällig gestossen war, bewirkten solche in höherem oder geringerem Grade, jedoch nie so deutlich wie der virulente Streptokokkus longus.

Energie der krankmachenden Wirkungen (Virulenz).

Die bisherigen Betrachtungen galten der Feststellung der qualitativen Beschaffenheit der krankmachenden Wirkungen. Die Intensität,

mit der dieselben ausgeübt werden, findet ihren Ausdruck in der Virulenz. Das hauptsächlichste Moment, von dem wir bis jetzt sicher wissen, dass es die Virulenz der Bakterien erheblich zu steigern vermag, ist die Thierpassage. Dieselbe hat jedoch nicht für alle Bakterien die gleiche Bedeutung. Diejenigen nämlich, die hoch toxische Stoffe frei in ihre Umgebung secerniren, werden durch dieselbe weit weniger beeinflusst, als diejenigen, bei denen die schädigende Wirkung wie bei den Streptokokken an die Bakterienzelle selbst gebunden ist. Die Thatsache kann nicht auffallen; vollzieht sich doch bei jenen die Reaction des thierischen Organismus — also das Moment, in dem wir die virulenzerhöhende Ursache zu suchen haben — gegen das schon abgesonderte Product, bei diesen gegen die Bacterienzelle selbst. Jene sind Büchsenschützen vergleichbar, die ihrer Waffen beraubt werden, diese sind Faustkämpfer, die selbst niedergeworfen werden müssen. Die zur letzteren Kategorie gehörenden Bakterien sind es vorwiegend, die grossen Steigerungen der Virulenz durch die Thierpassage zugänglich sind. Nun setzen aber die verschiedenen Thiere verschiedene Widerstände*) entgegen, nicht nur quantitativer, sondern wahrscheinlich auch qualitativer Art. Das Resultat der Passage durch verschiedene Thierarten kann deshalb a priori betrachtet ein verschiedenes sein. Man gelangt so zu dem Begriff der specifischen Virulenz, ohne den wir grade für die Erklärung der Streptokokkenwirkungen kaum auskommen können.

So zeigte *Knorr*[32]), dass man einen Streptokokkus für Mäuse hochvirulent machen konnte, ohne dass derselbe diese Eigenschaft auch für Kaninchen annahm, ja dass man einen kaninchenvirulenten geradezu für Kaninchen abschwächen konnte, wenn man ihn für Mäuse virulent machte. *Petruschky*[61]) wies dann weiterhin nach, dass ein für Kaninchen hochvirulenter Streptokokkus für den Menschen unschädlich war. Ebenso züchtete er aus dem Menschen einige Streptokokken, die man nach ihrem Fundort als menschenvirulent annehmen konnte und die sehr wenig thierpathogen waren.

Mag nun auch durch Versuche, die ich weiter unten anführen werde, die Specificität der Virulenz Einschränkungen zu erfahren haben, so wird sie gleichwohl im wesentlichen anerkannt werden müssen. Das krankmachende Princip muss bei den Streptokokken als aus verschiedenen Componenten zusammengesetzt gedacht werden, von denen bald die eine, bald die andere, und zwar je nach Massgabe der stattgehabten Thierpassage und vielleicht auch anderer uns noch unbekannter Momente prävalirt. Diese Anschauung erfährt eine entschiedene Stütze durch die Versuche mit dem Streptokokkenimmunserum, die nicht gut anders als durch Differenzen innerhalb der Gruppe der morphologisch gleichwerthigen Vertreter des Streptokokkus longus erklärt werden können.

Dass jedoch zum Theil die zunächst als specifisch imponirenden Unterschiede der Virulenz als mehr quantitativer Natur anzusehen sind, dürfte aus Folgendem hervorgehen. Ordnet man unsere Versuchsthiere nach

*) Was ich hier als Widerstände bezeichne und was in seiner Gesammtheit zusammenfällt mit den sehr mannigfachen Ursachen der natürlichen angeborenen Immunität, ist sicher nicht alles geeignet, die Bakterien specifisch zu verändern. Hierbei werden hauptsächlich nur die in den Flüssigkeiten des Körpers gelösten, resp. in sie übergehenden baktericiden Stoffe in Betracht kommen.

der Widerstandsfähigkeit gegen den Streptokokkus longus in eine Scala, so würden sich als die am leichtesten krank zu machenden Thiere die Mäuse ergeben, dann folgten die Kaninchen, darauf die Meerschweinchen und Ratten. Nun ergibt sich, dass die für Kaninchen virulenten Streptokokken auch für Mäuse virulent sind und dass ein Streptokokkus, der hohe Virulenz für die Meerschweinchen besitzt, für alle drei Thierarten hochvirulent ist.

Die für den Menschen pathogenen Streptokokken, das heisst diejenigen, bei denen man nach der Art des durch sie hervorgerufenen Processes auf eine virulente Beschaffenheit gegenüber dem Menschen schliessen kann, sind auch pathogen für Mäuse und meist auch für Kaninchen. Ausnahmen kommen allerdings vor, doch bleibt es hier denkbar, dass der Streptokokkus schon im Menschen abgeschwächt wurde und seine Anfangsvirulenz eine grössere war. Solche Abschwächungen können, je nach Relation von Virulenz und Widerstandsfähigkeit des befallenen Organismus sehr schnell eintreten, ja nach Stunden schon ganz deutlich bemerkbar sein, und dies auch dann, wenn der Organismus schliesslich doch der Infection unterliegt. Von dieser Thatsache kann man sich sehr leicht überzeugen, wenn man Kaninchen oder besser noch Meerschweinchen mit Streptokokken geringer oder mittlerer Virulenz (2—5 Ccm. tödtliche Dosis) inficirt und weiter durch Dosirung die Versuchsbedingungen so stellt, dass das eine Thier acut, das andere vielleicht erst nach 3—4 Tagen oder noch später der Erkrankung unterliegt. Im ersteren Falle können wir eine Steigerung, im letzteren eine mehr oder minder deutliche Verringerung der Virulenz constatiren. Ebenso werden die Verhältnisse beim Menschen liegen und hier wird eine Abschwächung um so eher eintreten, als die Erkrankung meist eine protrahirtere ist. Ein einige Tage nach Beginn der Erkrankung aus dem Menschen gezüchteter Streptokokkus wird häufig in seinem pathogenen Verhalten ein ganz anderer sein als derjenige, welcher die Infection eingeleitet hat.

Die Verfahren zur Erhöhung der Virulenz laufen darauf hinaus, durch eine geeignet geleitete Thierpassage den Streptokokkus gegenüber den Widerstandskräften der betreffenden Thierart überlegen zu machen.

Im allgemeinen stösst die Erhöhung der Virulenz eines Streptokokkus für Mäuse und Kaninchen auf keine besonderen Schwierigkeiten. Ausnahmen gibt es allerdings auch hier, und Schwierigkeiten gehören zur Regel, wenn man es mit widerstandsfähigeren Thierarten zu thun hat. Auch hier gelangt man meist leicht zu einer gewissen niederen Virulenz, so dass etwa 3—5 Ccm. intraperitoneal injicirt tödtlich wirken. Weiter will es dann häufig, so viel Thiere man opfert, nicht gehen. Untersuchte ich in solchen Fällen den Streptokokkus auf seine hämatolytischen Fähigkeiten, so fand ich dieselben ausnahmslos sehr herabgesetzt oder erloschen. Ich kam dann in der Weise zum Ziel, dass ich den Streptokokkus eine Zeitlang ausserhalb des Körpers auf geeigneten Nährböden züchtete, bis die hämatolytische Fähigkeit wieder hergestellt war. Zu solchen Nährböden eigneten sich Kaninchenserum, Blut und vor allem auch die mehrfach erwähnte Druckbouillon. Hatte sich so die Cultur erholt, so brachte ich sie in grosser Dosis von neuem auf das Thier. Blieb jetzt nach der ersten Passage die hämatolytische Fähigkeit erhalten und war somit keine Abschwächung eingetreten, so gelangte ich schnell nach einigen weiteren Passagen zu sehr hohen Graden der Virulenz (0,001 Ccm. tödtliche Dosis) auch bei Meerschweinchen. Es sei noch bemerkt, dass die Virulenz für Meerschweinchen auf unseren Nährböden noch schneller schwindet als die für Kaninchen.

III. Experimentelle Untersuchungen zur Therapie der Streptokokkeninfectionen insbesondere des Erysipels.

Von einer Behandlung der Streptokokkeninfectionen konnte bis dahin nur in den Fällen die Rede sein, wo die von aussen zugängliche Lage des Krankheitsherdes directe therapeutische Eingriffe ermöglichte. Es gehören hierzu vor allen die Erysipele, die phlegmonösen Entzündungen, manche Abscesse, sowie vielleicht noch die durch Streptokokken bedingten resp. durch sie complicirten Anginen. Es ist hier nicht der Ort, die verschiedenen hier üblichen Behandlungsmethoden im einzelnen kritisch zu beleuchten. In der Hauptsache laufen dieselben — von den chirurgischen Eingriffen abgesehen — darauf hinaus, entweder durch Application antiseptisch-medicamentöser Stoffe die Krankheitserreger selbst zu schädigen resp. zu vernichten, oder auf das erkrankte Organ, durch Erhöhung oder Herabsetzung des Blutgehaltes desselben, einzuwirken. Diese Heilverfahren sind nicht specifisch, sondern finden ebenso Anwendung bei entzündlichen Processen auf ganz anderer ätiologischer Basis. Die noch in den allerersten Anfängen begriffene specifische Therapie, bestehend in der Anwendung von Blutserum gegen Streptokokken immunisirter Thiere, wird in dem folgenden Abschnitte über Immunität eine entsprechende Berücksichtigung finden.

Als Prüfstein für den Werth der verschiedenen Heilverfahren könnte das Erysipel, als die reinste und von aussen zugänglichste Streptokokkeninfection des Menschen, noch am geeignetsten erscheinen. Aber auch diese Erkrankung erweist sich bei näherem Zusehen als ein sehr vorsichtig zu beurtheilendes Reagenz, und zwar deshalb, weil sie, häufiger als wohl irgend eine andere Krankheit, nach oft sehr bedrohlichem Anfange ganz spontan, schnell und vollständig zurückgeht. Hierin liegt

der Grund für die emphatische und gutgläubige Empfehlung unzähliger Mittel und Methoden, deren Werth bei näherer Betrachtung nicht viel höher steht als der mancher abergläubischer Manipulationen, die in Gestalt von „Besprechen“ und anderem Hocuspocus die Rose noch heute nach Ansicht vieler Leute vertreiben sollen. Eine principielle Entscheidung über den Heilwerth eines Verfahrens kann also gerade hier wohl nur das Thierexperiment bringen, und dies dürfte vor allem von der Anwendung von Desinfectionsmitteln gelten, die die Streptokokken im lebenden Gewebe vernichten sollen.

Beeinflussung von Streptokokkeninfectionen durch antiseptische Mittel.

Als *Hüter* die Carbolinjectionen gegen Erysipel empfahl, bestand noch der Glaube an viel stärkere und den Bakterien gegenüber mehr specifische Wirkungen unserer Antiseptica, als wir das heute als berechtigt anerkennen können. Den stärksten Stoss erhielten diese Anschauungen vor allem durch die *Behring*'schen Untersuchungen, welche zeigten, das die Werthe der meisten und gebräuchlichsten Desinfectionsmittel sofort auf ein sehr geringes Mass zurückgingen, sobald man die Prüfung statt in der eiweissarmen Nährbouillon oder in physiologischer Kochsalzlösung in Medien vornahm, die wie das Blutserum reich an genuinem Eiweiss waren. So ging unter anderen der Werth der Quecksilbersalze hier auf den zehnten Theil herunter. Noch ungünstiger sind die Resultate, wenn man in eiweiss- und zellenreichen Flüssigkeiten prüft. Im Pferdeblut vermochte in meinen Versuchen Sublimat in einer Concentration von 1 : 1000 bei 24stündiger Einwirkung Streptokokken aus Eiter nicht mit Sicherheit abzutödten. Relativ wirksamer waren unter den gleichen Bedingungen Carbol- und Kresollösungen. In Concentrationen von 1 : 40 bis 1 : 20 tödtete Carbolsäure den Streptokokkus in wenigen Minuten, bei 1 : 100 in 4—6 Stunden ab, während einige kurze Arten allerdings auch 24 Stunden und länger widerstanden. Die Entwicklungshemmung der drei vorwiegend bei Erysipel benutzten Präparate, der Carbolsäure, des Sublimats und des Ichtyols, stellte sich bei Prüfung in Blut wie folgt:

auf ein sehr niedriges Niveau. Hierzu kommt nun noch ihre gegenüber der thierischen Zelle relativ hohe Giftigkeit. *Behring* konnte für eine grosse Anzahl antiseptischer Substanzen (Phenole, Quecksilber und die andern Metallsalze, Arsenik etc.) berechnen, dass ihre Giftigkeit gegenüber dem thierischen Organismus etwa das Sechsfache von der entwicklungshemmenden betrug. Diejenigen Stoffe aber, bei denen dies Verhältniss nicht obwaltet, werden im Körper durch oxydirende und reducirende Einflüsse oder durch Paarungen mit anderen Substanzen so verändert, dass nicht nur die giftige, sondern auch die antiseptische Wirkung verschwindet. Hierzu gehören unter anderen einige in vitro sehr stark entwicklungshemmende Farbstoffe wie das Malachitgrün.

Nun wollen wir ja allerdings bei der Behandlung des Erysipels mit antiseptischen Mitteln keine Desinfectionswirkung in die Ferne ausüben, sondern an Ort und Stelle durch Zerstörung oder wenigstens Abschwächung der Krankheitserreger den Process bekämpfen. Was hier der Entfaltung der antiseptischen Wirksamkeit entgegensteht, ist leicht einzusehen. Es sind dies ausser der eiweissreichen Beschaffenheit des Mediums die durch den Lymphstrom bedingte Verdünnung, dann qualitative Veränderungen durch den Chemismus des Gewebes, sowie schliesslich mechanische Hindernisse für das gleichmässige Eindringen, die in der Structur des Gewebes ihren Grund haben. Wie weit trotz dieser widrigen Umstände eine Desinfection innerhalb des Gewebes möglich ist, lässt sich kaum anders als durch das Thierexperiment entscheiden.

In Versuchen, die ich vor Jahren an Kaninchen vornahm, verfuhr ich nun nicht in der Weise, dass ich schon erkrankte Thiere in Behandlung nahm, sondern indem ich während der Incubation durch Einspritzung antiseptischer Mittel in die unmittelbare Umgebung der Impfstelle den Process zu coupiren suchte. Ich zog diese Versuchsanordnung der von eigentlichen Heilversuchen vor, da ich sie für einfacher und, wenigstens bei negativem Ausfalle, für entscheidender hielt als jene. Die Thiere wurden also ca. 1,5 Ccm. oberhalb des Ohransatzes cutan am Ohre geimpft und dann ein Theil der Thiere sofort, ein anderer nach Verlauf einer Stunde, ein dritter nach drei Stunden in Behandlung genommen. Diese bestand bei allen Thieren in einer einmaligen Injection (in möglichster Nähe der Impfstelle) von je 1 Ccm. folgender Antiseptica: Sublimat 1 : 2500, Carbolsäure 1:200 und 1 : 100, Jod in Jodkali 1:200, Ichthyol 1 : 200.

Ein Erfolg war nur bei den sofort nach der Impfung behandelten Thieren zu merken, aber auch bei diesen nur im Sinne einer Verlängerung der Incubation um 1, 2, auch 3 Tage.

Noch schlechter waren die Resultate an Mäusen. Dieselben erhielten je 0,2 Ccm. eines in dieser Dosis tödtlichen Streptokokkus subcutan unter die Rückenhaut und dann ebenfalls sofort oder nach einer, respective drei Stunden das Medicament an dieselbe Stelle. Es wurden dieselben Substanzen wie oben verwendet, nur in geringerer Menge (je 0,4 Ccm.) und die Carbolsäure nur in der Concentration von 1 : 200. Das einzig erkennbare Resultat gab hier die Jodlösung bei Application unmittelbar nach der Infection. Die so behandelten Thiere lebten einige Tage länger als die übrigen. Wurde statt des wenig virulenten Streptokokkus ein virulenter in entsprechend herabgesetzter Dosis, aber unter Beibehaltung des Injectionsquantums von 0,2 Ccm. verwandt, so war kein positives Resultat erkennbar.

Die hier über Streptokokken mitgetheilten Versuche sind analog den seinerzeit von *Behring* zur Heilung der Diphtherie bei Meerschweinchen angestellten. Obwohl bei jenen die Verhältnisse noch günstiger lagen, da der Diphtheriebacillus local bleibt und ausserdem gegen antiseptische Mittel empfindlicher ist als die Streptokokken, zeigten auch dort nur sehr wenige Präparate, wie die Goldsalze und Jodtrichlorid, einen deutlich heilenden Einfluss.

Die einzigen Versuche, die meines Wissens die Möglichkeit von Desinfectionswirkungen innerhalb des lebenden Körpers mit chemischen Präparaten ergeben haben, sind die gleichfalls von *Behring* mitgetheilten Versuche mit Mischungen von Sublimat und Natriumchloroborosum an milzbrandinficirten Mäusen. Ein solches Desinfectionsgemisch von Sublimat (0,04%) 1 Theil und 3 Theilen Natrium chloroborosum (10%) erwies sich in einer Menge von 0,4 Ccm., Mäusen applicirt, selbst dann als heilkräftig, wenn es erst Stunden nach der Infection zur Anwendung kam. Allerdings bleibt es zweifelhaft, ob es sich hier ausschliesslich um bakterienfeindliche Einflüsse gehandelt hat, da die aus der Oedemflüssigkeit gezüchteten Bacillen vollkommen intact waren.

Jedesfalls können wir bis jetzt Desinfectionswirkungen innerhalb des lebenden Gewebes, wenigstens mit den bisher gebräuchlichen und deshalb hier in Rechnung gezogenen Präparaten als durch keine Thatsachen gerechtfertigt ansehen. Ob gegenüber Streptokokken das neuerdings von *Löffler* empfohlene Metakresolanytol wesentlich Besseres leisten kann, müssen weitere Versuche ergeben.

Beeinflussung von Streptokokken-Infectionen durch Aenderung des Blutgehaltes der erkrankten Organe.

Im normalen Blute finden sich in ungeformtem und geformtem Zustande Elemente, von denen wir antibakterielle Wirkungen kennen und denen wir deshalb auch eine heilende Wirkung gegenüber Streptokokken-Infectionen zutrauen könnten. Es sind dies von *Buchner* nachgewiesene lösliche Stoffe, die Alexine, sowie die Leukocyten. Die Erwartung dürfte

Meerschweinchen, doch habe ich dieselbe auch hier nicht so deutlich finden können, wie dies *Bordet*[7]) beschreibt. Die baktericiden Kräfte des normalen Blutes an sich müssen also, auch wenn sie in grosser Menge in Action treten, ohne wesentlichen Einfluss auf die Erkrankung bleiben. Gleichwohl beweisen aber Experimente, dass der Blutgehalt des erkrankten Organs keineswegs gleichgiltig für die Heilung ist.

Roger durchschnitt den Halssympathicus eines Kaninchens und impfte dann das Ohr auf der lädirten Seite mit einer virulenten Erysipelcultur. Es zeigte sich dann, dass die Entzündungserscheinungen bei so operirten Thieren viel schneller einsetzten und die Krankheit überhaupt die ersten Tage viel intensiver verlief als bei den Controlthieren. Vom dritten bis fünften Tage an trat jedoch eine erhebliche Besserung ein, die nach weiteren 3—4 Tagen zur Heilung führte. Bei den Controlthieren dagegen gingen die Erscheinungen viel langsamer zurück, die Schwellungen hielten sich über den achten Tag hinaus und bei manchen traten Ulcerationen ein. *Roger* sieht daraufhin in der Hyperämie einen heilenden Factor, der zu begünstigen sei. Zu abweichenden Schlussfolgerungen gelangte *Ochotine*[54]) auf Grund seiner analogen Versuche. Dieser Autor fand die Entzündungserscheinungen am geringsten am anämischen Ohre, stärker am normalen, und am stärksten bei vorhandener Hyperämie. Er glaubt deshalb im Gegensatz zu *Roger*, dass die Hyperämie nicht zu begünstigen, sondern herabzusetzen sei, muss dabei aber doch zugeben, dass die Rückbildung des erysipelatösen Processes und die Rückkehr des Gewebes zur Norm, sich am hyperämischen Ohre schneller vollzieht als am normalen. Diese günstige Wirkung der Hyperämie wird sich zum Theil auf die Begünstigung der Resorptionsverhältnisse, weiterhin auf die Verbesserung der Ernährungsbedingungen, die der Zelle eine schnellere Regeneration ermöglicht, zurückführen lassen. Hierzu dürfte dann noch ein anderes und, wie ich glaube, wichtiges Moment hinzukommen. Nach unseren jetzigen Anschauungen steht die Bildung der Antikörper mit der Zellregeneration in engem Zusammenhange, und Einflüsse, die die eine begünstigen, müssen auch die andere fördern. In diesem Sinne, respective auf diesem Wege würde also auch die Beförderung der Hyperämie der ätiologischen Indication gerecht werden.

Ganz anders als die activen Hyperämien müssen nach früher mitgetheilten Versuchen des Verfassers[44]) die venösen Stauungen hinsichtlich ihrer Bedeutung für den Heilungsprocess betrachtet werden. Die Versuche wurden auch hier am erysipelgeimpften Kaninchenohre vorgenommen. Um eine Stauung hervorzurufen, wurde dasselbe mit einem Collodium- oder Heftpflasterring an seiner Wurzel umgeben. Die Krankheit verlief hier, sowohl was das locale als das allgemeine Befinden betraf, viel schwerer als bei den Controlthieren; die völlige restitutio ad integrum war die Ausnahme. In mehreren Fällen riefen sogar wenig virulente Streptokokken, die bei den Controlthieren nur schnell vorübergehende Röthung bewirkten, Septikämie und den Tod hervor. Es verhalten sich die Streptokokken also anders als manche der übrigen Bakterien, beispielsweise der Tuberkelbacillus, dessen Infectionen häufig günstig durch venöse Stauungen beeinflusst werden sollen *(Bier)*.

* * *

Zum Heilapparate bei Erysipelen gehörig ist noch ein Verfahren, das weder antiseptisch wirken noch den Blutgehalt der erkrankten Theile

beeinflussen soll. Der Zweck ist hier vielmehr, dem Fortschreiten der Streptokokkenwucherung mechanische Hindernisse in den Weg zu legen. Es ist dies das von *Wölfler*[78]) empfohlene Verfahren, durch Traumaticinpinselungen oder Heftpflasterstreifen einen Druck auf die peripherischen Lymphgefässe auszuüben. Die theoretische Stütze desselben dürfte in der von *Pfleger*[61]) festgestellten Eigenthümlichkeit der Erysipele, mechanischen Widerständen auszuweichen, begründet sein.

IV. Immunität gegen die Infectionen mit dem Streptokokkus longus.

Bei der Unzulänglichkeit der Therapie gegenüber den Streptokokken-Infectionen, die besonders dann zutage treten musste, wenn die Krankheitsherde nicht von aussen zugänglich waren, erscheint es begreiflich, dass man sich auch auf diesem Gebiete mit Enthusiasmus den Wegen zuwandte, die durch *Behring* in der Serumtherapie gewiesen waren. Die erste Bedingung jedoch für die Gewinnung heilkräftiger Substanzen musste auch hier in der Möglichkeit liegen, eine ausreichende Immunität gegen Streptokokken herzustellen. Nach dieser Richtung schienen nun von vornherein die Verhältnisse bei den Streptokokken nicht günstig zu liegen, und bis in die neueste Zeit haben sich Stimmen verlautbaren lassen, die überhaupt eine Immunität gegen Streptokokken in Abrede stellten. Man berief sich dabei vor allem auf die Thatsache, dass das Erysipel dasselbe Individuum innerhalb kürzerer Zeiträume mehrfach befallen kann und häufig auch, ohne dass die letzten Erkrankungen eine Abnahme in der Intensität des Verlaufes erkennen lassen. *Hirtz* und *Widal*[27]) berichten sogar von einer Frau, die im Verlaufe eines Vierteljahrs nicht weniger als 20 Erysipele durchgemacht hatte, darunter einige sehr schwere Formen, während welcher wiederholt auch im Blute virulente Streptokokken nachgewiesen werden konnten. Auch die fortgesetzten Krankheitsschübe, die den Verlauf des

erwiesen hätte, dass der Mensch durch das Ueberstehen eines Erysipels keine Immunität acquirirte, so würde damit noch nicht die Möglichkeit der Herstellung einer Immunität bei dem Thier ausgeschlossen und der Weg zu therapeutischen Ergebnissen nach dieser Richtung hin verlegt sein.

Experimente zur Frage der Immunität beim Menschen.

Dem Umstande, dass Impfungen mit Erysipelkokken sich als therapeutische Massnahmen rechtfertigen lassen, verdanken wir eine Reihe von Experimenten, die für die Immunitätsfrage beim Menschen ein gewisses Interesse darbieten. Es handelt sich hierbei in erster Linie um die von *Fehleisen*[21]) und später von *Koch* und *Petruschky*[33]) mitgetheilten Versuche. Von *Fehleisen* wurden 7 Personen, die an malignen Geschwülsten, respective Lupus litten, mit Erysipelculturen geimpft, davon 6 mit Erfolg, während der siebente Kranke, ein Lupusfall, sich refractär verhielt. Dieser hatte jedoch früher an habituellem Erysipel gelitten und hatte erst vor 2—3 Monaten eine Gesichtsrose überstanden. Für die Frage der Immunität bieten aber besonders Interesse der Fall 3 eines 8jährigen Mädchens, welches am 7. October 1882 mit Erfolg, am 24. October und 9. November desselben Jahres aber ohne Erfolg geimpft war, ferner der Fall 5 einer Lupuskranken, die am 24. October desselben Jahres mit derselben Cultur geimpft war, die der Fall 3 als zweite, aber erfolglose Impfung erhalten hatte. Hier trat, obwohl der Kranke im December 1881 schon ein Gesichtserysipel überstanden hatte, eine heftige Rose auf. Aber auch hier blieb die am 9. November 1882 vorgenommene zweite Impfung erfolglos.

Diese beiden Fälle könnten immerhin für eine, wenn auch nur kurz dauernde Immunität bei Erysipel sprechen. Man kann auch hier, wenigstens bei Fall 3, nicht den Einwand erheben, dass möglicherweise die Cultur unvirulent geworden sei, denn dieselbe erwies sich bei der gleichzeitig vorgenommenen ersten Impfung des Falls 5 als sehr wirksam.

Vergleichen wir hiermit die Resultate von *Koch* und *Petruschky*, so scheinen sich die Verhältnisse wieder etwas anders zu stellen. *Petruschky* besass zwei Streptokokkenstämme, mit denen er Erysipel beim Menschen erzeugen konnte. Der eine war der Stamm Rt, aus Peritonealeiter stammend, der andere war aus einem Kopferysipel isolirt. Mit dem ersteren gelang es bei einer Reihe von Personen Erysipel zu erzeugen, bei anderen wieder nicht. Bei diesen glückte es aber in einzelnen Fällen mit dem zweiten Stamm. Allein auch dieser erwies sich unwirksam bei einer Leprakranken, die nur mit einer Eiterpustel reagirte, gleichwohl aber einige Zeit darauf an einem spontanen Erysipel des linken Unterschenkels erkrankte. *Petruschky* glaubt dies Erysipel durch einen Kratzeffect entstanden (wobei dann möglicherweise die Streptokokken der Eiterpustel das Impfmaterial abgegeben hatten). Das Verhalten der zuletzt genannten Leprakranken lässt auf gewisse regionäre Verschiedenheiten der Empfindlichkeit schliessen, die vielleicht hier mit der Localisation des Lepraprocesses zusammenhängen. Für die Immunitätsfrage interessirten am meisten die Versuche an einer Carcinomkranken, die wiederholt mit dem Stamme „Rt" geimpft wurde und darauf mit einem „deutlichen, aber nicht sehr schweren Erysipel" reagirte. Diese Kranke

Mitteln aber wissen wir, dass sie ihre Wirksamkeit der Fähigkeit verdanken, mit dem Bakterienprotoplasma Verbindungen einzugehen. Auch die Wirkung der in unserem Streptokokken-Immunserum enthaltenen Stoffe dürfte in dieser Weise die einfachste Erklärung finden. Wir hätten dann in diesen bakterieiden Körpern eigentlich Antitoxine vor uns, die aber nicht wie die Antitoxine der Diphtherie oder des Tetanus an freie lösliche Gifte herangehen, sondern an gewisse, mit dem Bakterienprotoplasma verbundene Giftcomponenten.

Ob ausser diesen specifisch bactericiden und in vitro nachweisbaren Substanzen sich noch andere, für die Immunität wichtige im Serum der immunisirten Thiere vorfinden, ist noch nicht mit Sicherheit zu entscheiden. Man könnte hier an antitoxische Stoffe gegenüber löslichen Giften denken. Hiervon wollte ja *Marmorek* Andeutungen in seinem Serum gefunden haben. *Bordet* wieder denkt an eine Neutralisirung einer von den Streptokokken abgesonderten, auf die Leukocyten negativ chemotaktisch wirkenden Substanz. Auch das würde ja auf eine Art Antitoxin hinauskommen. Die Annahme anderer als der bactericid wirkenden Substanzen würde allerdings absolut geboten sein, wenn sich die *Denys*'sche Angabe als richtig erwiese, dass in dem Serum der mit Streptokokken immunisirten Pferde sich keine bactericiden Substanzen feststellen liessen und dasselbe gleichwohl wirksam wäre. *Denys* sagt[12]: „Le sérum de cheval, ne possédant pas de substance bactéricide, ne paraît donc pas pouvoir en communiquer au lapin, de sorte que son rôle microbicide semble devoir consisté uniquement à mettre en jeu la phagocytose."

Meine eigenen, allerdings nicht sehr zahlreichen Versuche schienen dies jedoch nicht zu bestätigen. Bei der Prüfung der entwicklungshemmenden Wirkung des Pferdeserums kann nicht direct wie bei der entsprechenden Prüfung des Kaninchenserums verfahren werden, da das normale Pferdeserum an sich schon entwickelungshemmende Wirkungen besitzt. Ich habe deshalb das Pferdeimmunserum (Serum *Marmorek*) in Mengen von 2,5 Ccm. auf drei Oesen eines durch das Serum *Marmorek* beeinflussbaren Streptokokkus (Nr. 4 der Tabelle) 6—12 Stunden einwirken lassen, während in der gleichen Weise geimpfte Röhrchen mit dem Serum von diphtherie- und tetanusimmunisirten Pferden zur Controle dienten. Nach dieser Zeit wurde auf Kaninchenblut überimpft. Die Streptokokken aus den Controlröhrchen entwickelten sich in normaler Weise, während die durch Marmorekserum beeinflussten über 12 Stunden im Wachsthum zurückblieben.

Hält man, was ich für berechtigt ansehe, die bactericiden Substanzen für ausreichend, um einem activ immunisirten Thiere Impfschutz zu verleihen, so wird man doch jedenfalls noch Kräfte in Betracht ziehen müssen, die für eine schnelle Zerstörung der im geschwächten Zustande befindlichen Streptokokken sorgen. Andernfalls können, wie wir gesehen haben, bei der zeitlich begrenzten Wirkung der bactericiden Stoffe die Streptokokken sich wieder erholen und ihre frühere Energie wieder gewinnen. Da extracelluläre Auflösungserscheinungen nach Art der unter dem Einfluss der Cholera-Antikörper sichtbaren hier fehlen, andererseits eine reichliche Aufnahme der Streptokokken durch die Leukocyten sowohl extra wie intra corpus unter der Wirkung des Immunserums zu beobachten ist, so wird man in der Thätigkeit dieser Zellen ein zweites wichtiges Element der Abwehr zu suchen haben.

dass der Grad der durch die Immunsera bewirkten Schwächung der Streptokokken sich nach der Höhe der Immunität des Thieres, von dem das Serum stammte, und nach der Virulenz des zur Prüfung benutzten Streptokokkus richtete. Folgende Versuche mögen dies illustriren. Von Kaninchen 39, das erst zwei Einspritzungen abgetödteter Streptokokken erhalten hatte, wurden circa 15 Ccm. Blut abgenommen und in der früher angegebenen Weise durch Zusatz von citronensaurem Natron flüssig erhalten. Das Blut wurde in drei Röhrchen à 5 Ccm. vertheilt und mit je drei Oesen desselben Streptokokkus, mit dem das Thier vorbehandelt war, beimpft. Das Röhrchen *a* erhielt jedoch eine virulente Form des Streptokokkus (tödtliche Dosis für Kaninchen unter 0,01 Ccm.), das Röhrchen *b* eine mittelvirulente (2 Ccm. tödtliche Dosis) und das Röhrchen *c* eine unvirulente Form desselben Streptokokkus. Nach 24stündigem Aufenthalt im Brütschrank zeigte Röhrchen *a* die gleiche Entwicklung und dasselbe Aussehen wie das Controlröhrchen auf normalem Blut, Röhrchen *b* zeigte annähernd das gleiche Wachsthum wie *a*, jedoch ohne deutliche Veränderung der rothen Blutzellen, das Röhrchen *c* zeigte nur wenig Ketten und keine Blutveränderung. In den angelegten drei Controlröhrchen auf normalem Blut war reichliches Wachsthum mit Auflösung der rothen Blutzellen eingetreten. Nach 48 Stunden zeigte nur noch Röhrchen *c* einen Unterschied, der nach 12 Stunden auch hier undeutlich wurde.

Dass diese Unterschiede nicht in Eigenthümlichkeiten des Nährbodens ihren Grund haben, sondern auf einer Veränderung der Streptokokken selbst beruhen, geht daraus hervor, dass sich dieselben Unterschiede produciren lassen, wenn man das Immunserum in der Kälte auf die Streptokokken einwirken lässt und nach Verlauf von 12—24 Stunden von hier auf Röhrchen mit normalem Blute überimpft. Es zeigen sich dann, wenigstens für die nächsten 16—24 Stunden, im normalen Blute, das mit Immunserum durch veränderte Streptokokken beimpft war, dieselben Unterschiede wie vorhin, wo Immunblut mit nicht beeinflussten Streptokokken beimpft war.

Geht man nun weiter zur Prüfung des Blutes höher immunisirter Thiere über, so zeigen hier auch die virulenteren Formen Beeinflussung. Immer jedoch muss man für diese Versuche darauf Bedacht nehmen, zur Prüfung nur denselben Streptokokkenstamm zu benutzen, mit dem man immunisirt hat.

Verdünnt man das Serum immunisirter Thiere mit Wasser oder Bouillon, wenn auch nur zur Hälfte, so werden die antibakteriellen Wirkungen desselben erheblich geschwächt. Darauf angelegte Culturen unterscheiden sich nach 24stündigem Aufenthalt im Brütschrank, was Wachsthum und Virulenz anlangt, nicht von Controlculturen. Aber auch im unverdünnten Serum ist die Wirkung eine zeitlich ziemlich eng begrenzte, in ihrer Dauer bestimmt durch die Höhe der Immunität des Thieres, von dem das Serum gewonnen war, sowie die Virulenz und Wachsthumsenergie des eingeimpften Streptokokkus. Auch im unverdünnten Serum hat bei Aufenthalt im Brütschrank derselbe die schädigenden Wirkungen nach 24 Stunden meist schon völlig überwunden und davon abgeimpfte Culturen unterscheiden sich in nichts mehr von Controlculturen. Der Streptokokkus vermag sich also nach einem Stadium herabgesetzter Vitalität wieder völlig zu erholen und seine frühere Energie wieder zu gewinnen.

Was wir somit in vitro von der Wirkung des Streptokokken-Immunserums feststellen können, unterscheidet sich nicht wesentlich von der eines schwachen Antisepticums. Von den meisten antiseptischen

Anhang.

Nr.	Dat der Reinzüchtung	Bezeichnung	Herkunft	Wachsthum in Fleischbouillon makroskopisch	Wachsthum in Fleischbouillon mikroskopisch	Wachsthum auf Agar schräg	Wachsthum in Gelatinestich	Wachsthum auf Kartoffeln	Wachsthum auf flüssigem Kaninchenserum	Virulenz (tödtliche Dosis)	Bemerkungen
1		K.	Von Hrn. Dr. Knorr erhalten; v. diesem aus puerperaler Sepsis gezüchtet	Feinflockig, leicht getrübt	Conglomerate locker verschlungener langer Ketten	Kleinste opake runde Colonieen	Feine kugelige, dunkelgelbe Colonieen längs d. Impfstiches	Kein Wachsthum	Wie auf Bouillon	0,1 Ccm. tödtliche Dosis für Kaninchen; leicht zu steigern	
2	Jan. 1896	D. I.	Diphtherische Pseudomembran	Einzelne grosse zähe Flocken	Compacte Conglomerate, daneben einzelne Ketten	Wie K.	Wie K.	Kein Wachsthum	Wie auf Bouillon, doch sind die Flocken lockerer	0,3—0,5 Ccm. für Mäuse	
3	Febr. 1896	P. a.	Phlegmone am l. Oberarme	Fein flockig, leicht getrübt	Längere und kürzere Ketten	Wie K.	Wie K.	Kein Wachsthum	Getrübt	0,01-0,03Ccm. für Mäuse; 0,1 Ccm. für Kaninchen	
4	Nov. 1896	M. O.	Abscess am Vorderbeine eines Rindes	Diffus getrübt	Ketten von 8—10 Gliedern	Feinste tröpfchenartige glitzernde Colonieen	Wie K.	Kein Wachsthum	Getrübt	0,75 Ccm. für Mäuse; es entstehen Abscesse, an denen die Thiere nach 10 14 Tagen eingehen	Wächst später mit flockigem Bodensatz und unter Bildung langer Ketten

5	Jan. 1897	Mn.	Verunreinigung auf Meerschweinchenserum	Diffus getrübt	Diplokokken u. Ketten zu 3 u. 4 Gliedern; grosses Korn	2 Mm. grauweisse erhabene Colonieen		Grauer pelzartiger Ueberzug	Diffuse Trübung; mikroskopisch Kokkenhaufen und Ketten		Coagulirt energisch Milch; nicht färbbar nach *Gram*
6	März 1897	Kr.	Schwere gangränöse Phlegmone des l. Beines mit folg. allg. Sepsis	Flockiger Bodensatz; Bouillon klar	Lockere Convolute und einzelne Ketten	Wie K.	Wie K.	Kein Wachsthum	Trübung; mikroskopisch mittellange und kürzere Ketten	0,5 Ccm. für Kaninchen	
7	Aug. 1897	Pf. 34	Abscess bei einem Pferde	Zähflockiger Bodensatz; Bouillon klar	Compacte Haufen mit einzelnen kürzeren Ketten	Reichlicher, sonst wie K.	Wie K.	Feinster hauchartiger Ueberzug	Wie Kr.	Nicht virulent	
8	Aug. 1897	D. II	Diphtherische Pseudomembran	Leicht getrübt	Kürzere und längere Ketten	Wie K.	Spärlich	Kein Wachsthum	Trübung	0,3—0,5 Ccm. für Mäuse; 1,0 Ccm. macht bei Kaninchen Erysipel	
9	Aug. 1897	D. III	Diphtherische Pseudomembran	Krümeliger, spärlicher Bodensatz	Einzelne compacte Haufen, daneben einzelne kürzere Ketten	Wie K.	Spärlich	Kein Wachsthum	Trübung		

Nr.	Dat. der Reinzüchtung	Bezeichnung	Herkunft	Wachsthum: in Fleischbouillon makroskopisch	Wachsthum: in Fleischbouillon mikroskopisch	Wachsthum: auf Agar schräg	Wachsthum: in Gelatinestich	Wachsthum: auf Kartoffeln	Wachsthum: auf flüssigem Kaninchenserum	Virulenz (tödtliche Dosis)	Bemerkungen
10	Aug. 1897	Pf. 60	Verunreinigung auf Pferdeserum	Diffuse Trübung	Diplokokken und Ketten von 3. 4 Gliedern	2 Mm. breite, anfangs weissgraue, später orangefarbige Colonieen	Nach 3 Tagen beginnt Verflüssigung, die später vollständig wird	Ueppiger, braun- bis orangefarbener Ueberzug	Häufchen von Kokken und Ketten von 6—10 Gliedern	Unvirulent	Coagulirt Milch, nicht färbbar nach *Gram*
11	Sept. 1897	Prn.	Panaritium am rechten Zeigefinger	Spärliches Wachsthum, am 2. Tage sandartiger Bodensatz	Ketten mittlerer Länge, daneben viele Diplokokken	Spärliche feinste graue Colonieen	Feinste Pünktchen längs d. Impfstiches	Kein Wachsthum	Trübung; mikroskopisch Ketten mittlerer Länge	Unvirulent	
12	Sept. 1897	g. K.	Diphtherische Pseudomembran	Scholliger Bodensatz; Bouillon nach 24 Stund. klar	Compacte Kokkenhaufen, daneben Diplokokken	Auf Agar u. erstarrt. Serum 1—2 Mm. breite, weiche, schmier. Colonieen, später gelb pigmentirt		Feinster Ueberzug	Trübung; mikroskopisch Kokkenhäufchen und kurze Ketten	Für Mäuse nicht pathogen; für Kaninchen 0,5—1,0 Ccm.; starke Localerscheinungen, Tod nach 36 Stunden	Anfangs giftig; 3—4 Ccm. des Culturfiltrats tödten Kaninchen v. 1000 Gr. Wird nach Thierpassage langkettig und verliert allmähl. Virulenz und Giftigkeit
13	Oct. 1897	A. R.	Abscess bei einem Rinde	Spärlicher flockiger krümeliger Bodensatz	Kürzere und längere Ketten	Wie K.	Wie K.	Kein Wachsthum	Trübung; Ketten mittlerer Länge	0,75 Ccm. für Mäuse	

14	Nov. 1897	S.	Herzblut eines an Sepsis gestorbenen Mannes	Feinflockiger reichlicher Bodensatz	Convolute locker verschlungener Ketten	Wie K.	Wie K.	Kein Wachsthum	Wie auf Bouillon	0,01 Ccm. für Mäuse; 0,1—0,5 Ccm. für Kaninchen	
15	Jan. 1898	Ab. H.	Abscess am Halse	Leicht getrübt; am 2. Tage fast klar	Einzelne Ketten von geringerer und mittlerer Länge	Wie K.	Ueppiger, sonst wie K.	Spur Wachsthum	Wie auf Bouillon	0,5 Ccm. für Mäuse	
16	Febr. 1898	Ab. K.	Phlegmone am Knie	Feinflockige Trübung, die beim Bewegen des Röhrchens diffus wird	Meist längere Ketten	Wie K.	Wie K.	Kein Wachsthum	Wie auf Bouillon	0,5 Ccm. für Kaninchen	
17	Febr. 1898	B. A.	Bauchdecken-Abscess	Spärliches Wachsthum: krümeliger Bodensatz	Einzelne Kokkenhäufchen, daneben kürzere Ketten	Wie K.	Sehr spärliches Wachsthum	Kein Wachsthum	Ueppiger wie auf Bouillon	Unvirulent	
18	Febr. 1898	O. M.	Otitis media	Einzelne grosse Flocken	Convolute vielfach verschlungener Ketten	Grössere, 1 Cem. breite runde, grau durchschein. Colonieen	Wie K.	Kein Wachsthum		0,1—0,3 Ccm. macht bei Mäusen grosse Abscesse, Tod nach 14 Tagen bis 3 Wochen	
19	Febr. 1898	K. 22	Herzblut eines spontan gestorbenen Kaninchens	Diffuse Trübung, später Hautbildung	Feine Diplokokken und Ketten von 4 bis 6 Gliedern	1 Mm. grosse graue, etwas schmierige Colonieen	Grössere kugelige Colonieen, nach unten an Stärke sehr abnehmend	Feinster hauchartiger Ueberzug	Trübung; mikroskopisch feinste Diplokokken	Für Mäuse und Kaninchen hochvirulent (0,001 Ccm.)	Bildet auf. Gift (5 Ccm. d. Filtr. tödtl. Dosis für Meerschweinch. u. Kaninchen), später ungiftig, coagulirt Milch, färbbar n. *Gram*

Nr.	Dat. der Reinzüchtung	Bezeichnung	Herkunft	Wachsthum in Fleischbouillon makroskopisch	Wachsthum in Fleischbouillon mikroskopisch	Wachsthum auf Agar schräg	Wachsthum in Gelatinestich	Wachsthum auf Kartoffeln	Wachsthum auf flüssigem Kaninchenserum	Virulenz (tödtliche Dosis)	Bemerkungen
20	Mai 1898	E.	Gesichtserysipel	Fein flockige leichte Trübung	Längere und kürzere Ketten	Fast 1 Mm. breite, runde, grau durchscheinende Colonieen	Wie K.	Kein Wachsthum	Wie auf Bouillon	0,2 Ccm. für Mäuse; macht nach Kritzelimpfung bei Kaninchen Erysipel	
21	Mai 1898	En.	Herzklappe bei Endokarditis	Die ersten Tage diffuse Trübung	Einzelne längere und kürzere Ketten	Spärlich; feinste Tröpfchen	Kein Wachsthum	Kein Wachsthum	Ueppiger, sonst wie auf Bouillon	Nach 5 bis 10 Ccm. gehen die Thiere (Kaninchen) an marant. Erschein. ein	
22	Mai 1898	N.	Angina follicularis	Diffuse Trübung	Ketten von 4—6 Gliedern	Sehr spärlich	Kein deutliches Wachsthum	Kein Wachsthum	Trübung; mikroskopisch längere Ketten	Unvirulent	Wird später durch Zücht. auf Druckbouill. u. Kaninchenserum langkett. und Mäuse virulent
23	Aug. 1898	S. I.	Eiter eines Gehirn-Abscesses	Flockiger Bodensatz	Länger verschlungene Ketten	Aehnlich wie K.	Wie K, Colonieen etwas dunkler pigmentirt	Kein Wachsthum	Reichlicher, sonst wie auf Bouillon	3,0—5,0 Ccm. machen bei Kaninchen Infiltrate und Abscesse	
24	Aug. 1898	G. II.	Eiter eines Gehirn-Abscesses	Kein Wachsthum		Kein Wachsthum	Kein Wachsthum	Kein Wachsthum	Diffuse Trübung; mikroskopisch feine Diplokokken	0,1—0,3 Ccm. für Mäuse	

Literatur. [1]) *Aronsohn*, Ueber Antistreptokokken-Heilserum. Berliner klin. Wochenschr. 1896, Nr. 32. — [2]) *Babes*, Ueber pathogene Bakterien des Kindesalters. Wiener med. Presse. 1887. Nr. 10. — [3]) *Babes* et *Proca*, Étude sur les streptocoques. Annales de l'institut de Pathologie et de Bactériologie de Bukarest. IIIième année. Vol. IV, 1894. pag. 489. — [4]) *Behring*, Ueber Desinfection am lebenden Organismus. Vortrag auf dem VII. internat. Congress f. Hygienie u. Demographie in London. 1891. — [5]) *Behring*, Untersuchungsergebnisse betr. d. Streptokokkus longus. Centralbl. f. Bakteriologie. XII, 1892. pag. 192. — [6]) *Binaghi*, Ueber einen Streptokokkus capsulatus. Ebenda, XXII, Nr. 10, 11. — [7]) *Bordet*, Contribution à l'étude du sérum antistreptococcique. Annales de l'institut Pasteur. 1897, pag. 177. — [8]) *Bouchard*, Examen des doctrines de l'inflammation. La semaine méd 1891, pag. 20. — [9]) *Brunner*, Beiträge zur Aetiologie acuter Zellgewebsentzündungen. Wiener klin. Wochenschr. 1891, Nr. 20, 21. — [10]) *Courmont*, Société de Biologie. La semaine méd. 1897, pag. 93. — [11]) *Courmont*, Ebenda, pag. 282. — [12]) *Denys*, Le sérum antistreptococcique. Conférence faite le 15. Mai 1896 au cercle médical, de Louvain (van Lindhout). 1896. — [13]) *Denys* et *Leclef*, Sur le mécanisme de l'immunité chez le lapin vacciné contre le streptocoque pyogène. La Cellule. XI, 1895. — [14]) *v. Eiselsberg*, Nachweis von Eiterkokken im Schweisse eines Pyämischen. Berliner klin. Wochenschr. 1891, Nr. 23. — [15]) *Escherich*, Die Darmbakterien des Säuglings und ihre Beziehungen zur Physiologie der Verdauung. Stuttgart (Ferd. Enke) 1886. — [16]) *Escherich*, Ueber specifische Krankheitserreger der Säuglingsdiarrhoen. Wiener klin. Wochenschr. 1897. Nr. 42. — [17]) *d'Espine et de Marignac*, Note sur une espèce particulière de streptocoque retiré du sang d'un homme atteint de scarlatine. Archives de méd. expér. IV. 1892, pag. 458. — [18]) *Etienne*, Note sur les streptocoques décolorables par la méthode de *Gram*. Arch. de méd. expér. VII, Nr. 4. 1895. — [19]) *Fehleisen*, Verhandl. d. Würzburger phys.-med. Gesellsch. 1891. — [20]) *Fehleisen*, Ueber Erysipele. Deutsche Zeitschr. f. Chir. XVI, 1882. -- [21]) *Fehleisen*, Die Aetiologie des Erysipels. Berlin 1883. -- [22]) *Fessler*, Klinisch-experimentelle Studien über chirurgische Infectionskrankheiten. München 1891 (Wolf & Sohn). — [23]) *Friedrich*, Untersuchungen über Influenza. Arbeiten aus dem kaiserl. Gesundheitsamte. VI, pag. 254, 1891. — [24]) *de Giaxa e Pane*, Contributo alle cognizioni sulla immunizzazione dei conigli contro la infezione da streptococco. Riforma med. anno 12, vol. IV, pag. 5, 1897. — [25]) *Grawitz*, Beiträge zur Bakteriologie des Blutes nebst Bemerkungen über die durch Bakterienwirkungen bedingten Veränderungen der Blutmischung. Charité-Annalen. XIX, 1892/93. -- [26]) *Hirsh*, Ein Fall von Streptokokken-Enteritis im Säuglingsalter. Centralbl. f. Bakteriol. XXII, Nr. 14, 15. 1897. -- [27]) *Hirtz* et *Widal*, Étude clinique et bactériologique sur l'érysipèle à repétition. La Bulletin méd. 1891, Nr. 101. — [28]) *Holst*, Neue Versuche mit Kettenkokken in menschlichen Krankheitsfällen. Norsk Magazin for Lägevidenskaben. Christiania 1891, Septbr.-Novbr. — [29]) *Homén*, De l'action du streptocoque et de ses toxines sur les nerfs, les ganglions spinaux, et la moëlle épinière. Société de Biologie. Séance 23. Mai 1896. La semaine méd. 1896, pag. 211. — [30]) *Kirchner*, Zur Lehre von der Identität des Streptokokkus pyogenes und Streptokokkus erysipelatis. Centralbl. f. Bakteriol. XI, 1892. — [31]) *Knorr*, Beitrag zur Lehre von der Identität des Streptokokkus pyogenes und des Streptokokkus erysipelatis. Berliner klin. Wochenschr. 1893, Nr. 29. - [32]) *Knorr*, Experimentelle Untersuchungen über den Streptokokkus longus. Zeitschr. f. Hygiene. XIII, 1893, pag. 427. -- [33]) *Koch* und *Petruschky*, Beobachtungen über Erysipel-Impfungen am Menschen. Zeitschr. f. Hygiene. XXIII, pag. 477, 1896. - [34]) *Krönig*, Ueber die Natur der Scheidenkeime, speciell über das Vorkommen anaërober Streptokokken im Scheidensecret Schwangerer. Centralbl. f. Gynäkologie. 1895, pag. 405. -- [35]) *Kruse* und *Pansini*, Untersuchungen über den Diplokokkus pneumoniae und verwandte Streptokokken. Zeitschr. f. Hygiene. XI, pag. 279. — [36]) *Kühnast*, Zur Behandlung des Erysipels. Centralbl. f. Chirurgie. 1886, Nr. 9. — [37]) *Kurth*, Ueber die Unterscheidung der Streptokokken und über das Vorkommen derselben, insbesondere des Streptokokkus conglomeratus bei Scharlach. Arbeiten aus dem kaiserlichen Gesundheitsamte. VII, pag. 389. - [38]) *Kurth*, Bakteriologische Untersuchungen bei der Maul- und Klauenseuche. Ebenda. 1893. VIII, pag. 439. — [39]) *Kurth*, Ueber das Vorkommen von Streptokokken bei Impetigo contagiosa. Ebenda. VIII, 1893. -- [40]) *Laitinnen*, Ueber Streptokokkentoxin und dessen Wirkung auf das Nervensystem. Centralbl. f. allgem. Pathol. u. pathol. Anatomie. 1896, pag. 358. -- [41]) *Lemoine*, Streptocoques de l'érysipèle influencés par le sérum de *Marmorek*. La semaine méd. 1897, pag. 396. — [42]) *Libman*, Weitere Mittheilungen über die Streptokokken-Enteritis bei Säuglingen. Centralbl. f. Bakteriologie. 1897, XXII, Nr. 14, 15, pag. 376. -- [43]) *v. Lingelsheim*, Experimentelle Untersuchungen über culturelle u. pathogene Eigenschaften verschiedener Streptokokken und deren Verhalten zu chemischen Präparaten. Zeitschr. f. Hygiene. 1891. X, pag. 331. — [44]) *v. Lingelsheim*, Beiträge zur Streptokokkenfrage. Zeitschr. f. Hygiene. XII. 1892. — [45]) *Manfredi* et *Traversa*, Sull'azione fisiologica e

tossica dei prodotti di coltora dello streptococco dell'erisipela. Giornale internaz. delle scienze mediche. 1888. — [46]) *Mannaberg*, Zur Aetiologie des Morbus Brightii. Centralbl. f. klin. Medicin. 1888, Nr. 30. — [47]) *de Marbaix*, Étude sur la virulence de streptocoques. La cellule. VIII, 1892, fasc. 2. — [48]) *Marmier*, Sur la toxine charbonneuse. Annales de l'Institut *Pasteur*. 1895, pag. 532. — [49]) *Marmorek*, Le streptocoque et le sérum antistreptococcique. Annales de l'Institut *Pasteur*. 1895, pag. 593. — [50]) *Marmorek*, Traitement de la scarlatine par le sérum antistreptococcique. Ebenda. 1896, Nr. 1. [51]) *Marot*, Sur un caractère différentiel d'un streptocoque de la bouche. La semaine méd. 1892, Nr. 35. — [52]) *Marot*, Sur un streptocoque [Thèse] (Société d'éditions scientifiques). Paris 1893. — [53]) *Mery*, Société de Biologie. La semaine méd. 1897, pag. 60. — [54]) *Ochotine*, De l'influence de la paralysie vasomotrice sur l'évolution de l'inflammation produite par le streptocoque de l'érysipèle. Archives de méd. expér. IV, 1892, pag. 245. [55]) *Ogston*, Ueber Abscesse. Arch. f. klin. Chirurgie. 1880, XXV. — [56]) *Ogston*, Report upon microorganism in surgical disease. Brit. med. Journ. March 12. 1881, pag. 369. — [57]) *Ogston*, Micrococcos poisoning. Journ. of anat. and physiol., normal and pathological. XVI, pag. 562, und XVII, pag. 24. — [58]) *Pane*, Sulla diagnosi differenziale fra lo streptococco dell'erisipela e lo streptococco piogeno. Giornale dell'Assoziazione dei medici e naturalisti di Napoli 1893, punta I. — [59]) *Pane*, Ueber die Bedingungen, unter denen der Streptokokkus pyogenes die Nährgelatine verflüssigt. Centralbl. f. Bakteriol. 1894, XVI. pag. 228. — [60]) *Pasquale*, Vergleichende Untersuchungen über Streptokokken. *Ziegler's* Beitr. z. pathol. Anat. 1893, XII, pag. 433. — [61]) *Petruschky*, Untersuchungen über Infection mit pyogenen Kokken. Zeitschr. f. Hygiene. 1894. XVII, pag. 59, und XVIII, pag. 413. — [62]) *Petruschky*, Entscheidungsversuche zur Frage der Specifität des Erysipel-Streptokokkus. Ebenda. 1896. XXIII, pag. 142. — [63]) *Pfleger*, Beobachtungsstudien über die Verbreitungsweise des Erysipelas migrans. *Langenbeck's* Archiv. XIV, 1872. — [64]) *Poels* und *Nolen*. Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Thierheilk. 1887, pag. 283. — [65]) *Rodet*, De la variabilité dans les microbes au point de vue morphologique et physiologique. Paris (Baillière fils) 1895. — [66]) *Roger*, Modifications du sérum à la suite de l'érysipèle. Comptes rendus de la Société de Biologie. 1890, Nr. 31. — [67]) *Roger*, Sérum des animaux prédisposés. La semaine méd. 1892, Nr. 39. — [68]) *Roger*, Contribution à l'étude expérimentale du streptocoque de l'érysipèle. Revue de médecine. XII, December 1892. — [69]) *Rosenbach*, Mikroorganismen bei den Wundinfectionskrankheiten des Menschen. Wiesbaden 1891. [70]) *Roscher*, Blutuntersuchungen bei septischem Fieber. Inaug.-Diss. März 1894. Berlin. — [71]) *Schenk*, Ueber Streptokokkenserum und über Streptokokkentoxine. Wiener klin. Wochenschrift. October 1897. — [72]) *Schütz*, Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Thierheilk. 1887. pag. 27, und 1889, pag. 456. — [73]) *Seitz*, Streptokokkus aggregatus. Centralbl. f. Bakteriologie. XX, pag. 854. — [74]) *Sieber-Shoumoff*, Recherches sur les streptocoques pathogènes. Archives des sciences biologiques publiées par l'institut impérial de méd. expér. à St. Pétersbourg. 1892, I. — [75]) *Stolz*, Ueber besondere Wachsthumsformen bei Pneumo- und Streptokokken. Centralbl. f. Bakteriologie. 1898, XXIV, Nr. 9. — [76]) *van de Velde*, De la nécessité d'un sérum antistreptococcique polyvalent pour combattre les streptococcies chez le lapin. Arch. de méd. expér. et d'anat. pathol. 1897, Nr. 4, pag. 855. — [77]) *Widal et Besançon*, Myélites infectieuses expérimentales par streptocoques. Annales de l'Institut *Pasteur*. 1888, pag. 104. — [78]) *Wölfler*, Zur mechanischen Behandlung des Erysipels. Centralbl. f. Chirurgie. 1888, pag. 418.

Druck von Gottlieb Gistel & Comp. in Wien.

BEITRÄGE ZUR EXPERIMENTELLEN THERAPIE

HERAUSGEGEBEN

VON

PROF. DR. E. v. BEHRING, WIRKLICHER GEHEIMER RATH.

[illegible]

HEFT [illegible]

I. Aetiologie und ätiologische Therapie des Tetanus

von

E. v. Behring.

II. Neue Mittheilungen über Rindertuberculosebekämpfung.

von

Dr. med. **Paul H. Römer,**

[illegible]

BERLIN 1904.

VERLAG VON AUGUST HIRSCHWALD.

IE

tanus.

von

Dr. med. **Paul H. Römer,**
Privatdocent und Vorsteher der Abtheilung für experimentelle Therapie des Instituts für Hygiene und experimentelle Therapie der Universität Marburg.

Mit 33 Tafeln.

BERLIN 1904.
VERLAG VON AUGUST HIRSCHWALD.
NW. UNTER DEN LINDEN 68.

SRETEN, P.

Name

Additional holds

Phoned

Post card

NO ORANGE CARD IN

.E

D

Privatdoz

L.D.

AETIOLOGIE

UND

AETIOLOGISCHE THERAPIE

DES

TETANUS.

VON

E. v. BEHRING.

BERLIN 1904.
VERLAG VON AUGUST HIRSCHWALD.
NW. UNTER DEN LINDEN 68.

auf diese Weise tetanisch gemachter Meerschweine verbleibenden Bacteriengemisch die Tetanusbacillen in Reincultur zu erhalten, habe ich in vielen Fällen die nachträgliche Uebertragung auf Mäuse durch intraperitoneale Injection bewährt gefunden.

Die Tetanusbacillen und ihre Dauerformen sind zu saprophytischer Existenz befähigt und sehr verbreitet in der Nähe menschlicher Wohnstätten, so dass die Gelegenheit zur epidemiologischen Tetanusinfection reichlich genug vorhanden ist.

In künstlichen Nährböden sind die Tetanusbacillen leicht zu züchten, wenn man nur dafür sorgt, dass der freie Sauerstoff irgendwie beseitigt wird. Ganz besonders gut gedeihen sie in der gewöhnlichen Nährgelatine, wenn diese hochgeschichtet wird. In Fleischpeptonbouillon kann man die Tetanusbacillen auch ohne Sauerstoffaustreibung zu üppigem Wachsthum bringen, wenn gleichzeitig andere Bacterien, z. B. die gewöhnlichen Heubacillen, mitgeimpft, oder wenn sie in ölüberschichtete, noch warme Bouillon reichlich übergeimpft werden.

Es ist sehr bemerkenswerth, dass die Infectiosität und die Giftproduction des Tetanusvirus in verunreinigten Culturen eher eine Zunahme als eine Abnahme erfährt. Bei vergleichenden Untersuchungen in meinem Marburger Institut sind die stärksten Tetanusgifte gerade aus Mischculturen gewonnen worden.

Bouillonculturen des Tetanusbacillus sind während der ersten Tage des Wachsthums durchweg getrübt, werden später aber klar, und die Bacillenmasse setzt sich am Boden ab. Ich bewahre die von 8—10 Tagen alten Culturen abfiltrirte Flüssigkeit unter Toluol oder mit 0,5 pro Carbolzusatz auf und benutze zur Giftwerthbestimmung und für die Antitoxinerzeugung mit Vorliebe Toluol-Bouillonfiltrate.

Die Giftwerthermittelung erfolgt in meinem Marburger Institut für den praktischen Gebrauch, d. h. zur Antitoxin erzeugenden Behandlung von Pferden, durch Feststellung des Antitoxin neutralisirenden Werthes, welchen ich den indirecten Giftwerth nenne.

Wir gehen dabei von einem Test-Antitoxin aus, welches in Trockenform aufbewahrt wird und in 1 Grm. 100 A. E. (Antitoxin-Einheiten) enthält = Tet. A. N^{100}.

Die jedesmalige Prüfungsdosis beträgt 0·00001 Grm. = $^1/_{1000}$ A. E. = Tet A. $N^{0,001}$, in welcher Dosis 40.000 —Ms enthalten sind.

Diejenige Giftmenge, welche mit $^1/_{1000}$ A. E. in 0·4 Ccm. Flüssigkeit Mäuse bei subcutaner Injection nach 4—5 Tagen an Tetanus sterben lässt, repräsentirt $^1/_{1000}$ G. E. oder 40.000 $\pm$ms = Tet. T. $N^{0,001}$.

Ich bewahre nur solche Culturfiltrate auf, welche ursprünglich in 1 Ccm. mindestens 2,000.000 +ms = $^1/_{20}$ G. E. enthalten, also in der Menge von höchstens 0·02 Ccm. $^1/_{1000}$ A. E. bis L† (= Limes tod-zu neutralisiren im Stande sind.

Das Schema für die Prüfung gestaltet sich bei uns so, dass zunächst 2 Ccm. Tetanusantitoxinlösung, enthaltend $^1/_{100}$ A. E. oder 400·000 — Ms (= 0·0001 Grm. des Testantitoxins), gemischt werden mit 2 Ccm. von einer 10fachen Verdünnung des zu prüfenden Culturfiltrats, und dass man dann von dieser Mischung 0·4 Ccm. einer Maus unter die Haut spritzt. Bleibt die Maus ganz gesund, dann wird das Culturfiltrat be-

seitigt, wird sie aber tetanuskrank und stirbt am Tetanus nach frühestens 4 Tagen, dann ist mit diesem einen Versuch die Prüfung für uns beendet, und wir erklären das Gift für $^1/_{20}$fach. Stirbt die Maus aber sehr schnell an Tetanus, so wird die Prüfung fortgesetzt und zugesehen, ob auch noch mit 0·01 Ccm. Culturfiltrat $^1/_{1000}$ A. E. neutralisirt wird. Die giftigsten Culturfiltrate waren in meinen Versuchen $^1/_8$fach, d. h. sie enthielten in 1 Ccm. 5,000.000 + ms. Aus den Culturfiltraten kann man durch Ammonsulfatfällung und andere Concentrationsmethoden leichtlösliche Trockengifte gewinnen mit 200 Millionen + ms in 1 Grm. und darüber.

Sowohl in den Culturfiltraten selbst, wie in den daraus gewonnenen Trockenpräparaten wird der + ms-Werth (indirecter Giftwerth) allmählich kleiner, jedoch nicht in dem Grade, wie das der Fall zu sein pflegt beim directen Giftwerth, worunter ich die krankmachende Fähigkeit antitoxinfreier Tetanusgifte für Mäuse bei subcutaner Injection verstehe. Ganz frische Culturfiltrate haben annähernd ebensoviel + Ms, als + ms in 1 Ccm. 1 + ms ist dann für 1 Grm Lebend-Mäusegewicht (= 1 Ms) tödtlich nach 4—5 Tagen. Für die Bestimmung des directen Giftwerthes werden demgemäss von einem Bouillonculturfiltrate (B. K. F.) beispielsweise für 15 Grm. Gewicht (= $\mathfrak{Ms}^{15}$) 15 + ms subcutan (= sk) injicirt. Wird die Maus danach tetanisch und stirbt sie nach 4—5 Tagen, so ist 1 + ms von diesem Gifte = 1 + Ms; bleibt sie aber am Leben oder wird gar nicht krank, so muss man 2 + ms oder noch mehr + ms pro 1 Grm. Mäusegewicht (= 1 Ms) einspritzen, bis der Tod innerhalb 4 bis 5 Tagen (L† Werth) eintritt.

Ich bewahre seit 5 Jahren in grosser Menge eine Tetanusgiftlösung (IIa) auf, welche ursprünglich in 1 Ccm. 2,000.000 + ms und 2,000.000 + Ms enthielt. Gegenwärtig hat diese Giftlösung in 1 Ccm. immer noch 1,000.000 + ms, während der directe Giftwerth auf 5000 + Ms zurückgegangen ist, so dass nunmehr 1 + ms = $^1/_{200}$ + Ms, oder 1 + Ms = 200 + ms geworden ist.

Ausser den bisher genannten, durch Buchstabenzeichen wiederzugebenden Werthen + ms und + Ms sind noch zwei andere der Berücksichtigung würdig, welche ich + $\underline{\text{Ms}}$ und + $\underline{\text{ms}}$ schreibe, womit ich zum Ausdruck bringen will, dass die in Frage stehende Dosis von der geprüften tetanusgifthaltigen Flüssigkeit für Mäuse nicht tödtlich, sondern bloss vorübergehend krank machend ist.

Die von Tag zu Tag zunehmende Verallgemeinerung der tetanischen Erscheinungen bei progressivem Krankheitsverlauf wird durch die Zeichen „ -“, „ .“ und „ “ protokollirt, wobei „ “ localisirter, „ - “ über grössere Muskelpartien ausgedehnter, „ “ allgemeiner Tetanus bedeutet. Sind keinerlei Krankheitserscheinungen bemerkbar, so schreibe ich „0“.

Wie für mein Tetanusgift IIa sich im Sommer 1902 die vorstehend charakterisirten Werthe gestalteten, kann aus den nachfolgend wiedergegebenen Original-Protokollen erkannt werden, aus welchen gleichzeitig hervorgehen dürfte, dass wir in Marburg uns nicht ohne Erfolg darum bemüht haben, die Prüfungsergebnisse ganz kurz und doch in nicht misszuverstehender Weise zu verzeichnen.

1.

Ms 10,5 Nr. 3085	18/VII 02 In 4 Ccm. { 0·21 Ccm. Tet. G. IIa, 1/100 A. E.*) } Davon: 0·4 Ccm. sk.	19/VII 02 0 20/VII 02 – ? 21/VII – ? 22/VII — 23/VII — 1/VIII 0	Ergebniss: 1 Ccm. = 1,900.000 + ms

2.

Ms 10,5 Nr. 3087	18/VII 02 In 4 Ccm. { 0·23 Ccm. Tet. G. IIa, 1/100 A. E. } Davon: 0·4 Ccm. sk.	19/VII 02 0 20/VII — 21/VII ═ 22/VII †	Ergebniss: 1 Ccm. = 1,740·000 + ms

3.

Ms 12,5 Nr. 3119	9/VIII 02 0·5 Ccm. 1/2000 Tet. G. IIa = 0·00025 Ccm. sk.	10/VIII 02 0 11/VIII 02 0? 12/VIII 02 — 13/VIII 02 — 14/VIII 02 — 15/VIII 02 — 20/VIII 02 0	Ergebniss: 1 Ccm. = 50.000 + Ms

4.

Ms 10 Nr. 3126	15/VIII 02 0·4 Ccm. 1/300 Tet. G. IIa = 0·00134 Ccm sk.	16/VIII 02 — 17/VIII 02 — 18/VIII 02 — 19/VIII 02 ═ 20/VIII †	Ergebniss: 1 Ccm. = 7500 + Ms.

*) Um zu der Mischung in Protokoll Nr. 1 zu gelangen, wurden in 2 Ccm. 1 proc. Kochsalzlösung 0,21 Ccm. Tet. G. und 0.0001 Grm. Tet. A. N^{100}, gleichfalls in 2 Ccm. gelöst, zusammengegossen. 0,4 Ccm. dieser Mischung enthalten dann 0,021 Ccm. Tet. G. IIa und 1/1000 A. E.

Bei der Berechnung des Prüfungsergebnisses in den Protokollen 1 und 2 wird davon ausgegangen, dass 1/1000 A. E. = 40,000 —Ms ist, und dass bei der Maus Nr. 3085 mit 0,021 Grm. der +msWerth (L—Werth), mit 0,023 Ccm. bei der Maus Nr. 3087 der +msWerth (L†Werth) erreicht wurde. - Wenn nun 0,021 Ccm. Tet. G. IIa von 40.000 —Ms bis zu L—, und 0,023 Ccm. Tet. G. IIa von 40.000 —Ms bis zu L† im Giftwerth reducirt werden, dann werden zur Erreichung des L†Werthes gegenüber 1 Ccm. Tet. G. IIa $\frac{40.000}{0,023}$ = ca. 1,740.000 —Ms erforderlich sein, woraus sich die entsprechenden +ms und +ms Werthe von selbst ergeben.

Bei der zahlenmässigen Berechnung dieser indirecten Giftwerthe lassen wir das Körpergewicht der Mäuse ausser Acht, weil unzählige

Einzelversuche gezeigt haben, dass innerhalb der Schwankungen von 10 bis 15 Grm. Mäusegewicht keine nennenswerthen Unterschiede in den indirecten Limeswerthen zu constatiren sind.

Dagegen darf für die Bestimmung des directen Giftwerthes das Körpergewicht nicht vernachlässigt werden, und ich berechne diesen Werth deswegen nicht unter Zugrundelegung von 𝔐𝔰-Einheiten, sondern von Ms-Einheiten, d. h.: ich rechne nicht mit Mausindividuen, sondern mit Gramm-Mäusegewicht. Eigentlich müsste man für ganz genaue Untersuchungen noch unterscheiden zwischen Ms von jungen und Ms von alten Mäusen. Solche Unterschiede machen sich jedoch bei der vergleichenden Prüfung kaum bemerkbar, wenn es sich nicht um gravide oder kranke Thiere handelt. Diese werden aber principiell von unseren Untersuchungen ausgeschaltet.

Demgemäss wird in den Protokollen 3 und 4 gerechnet: $12\cdot5 \times 2000 \times 2 = 50.000 + \underline{Ms}$ für Nr. 3119 und $10 \times 300 \times 2\cdot5 = 7500 + Ms$ für Maus Nr. 3126.

Aus den Protokollen 3 und 4 lässt sich berechnen, dass von dem Tetanusgift IIa $1 + \underline{Ms} = \frac{3}{20} + Ms$ ist, d. h. dass die krankmachende Dosis $6^2/_3$ mal kleiner ist wie die tödtliche. Man muss 0,0011 Ccm. der krankmachenden Dosis (= 0,00025 Ccm. IIa) hinzufügen, um vom L—Werth zum L†Werth anzusteigen. Aus den Protokollen 1 und 2 geht aber hervor, dass von demselben Gift 0,0011 Ccm. nicht genügen zur Erreichung des L†Werthes, wenn man diese Giftdosis einer antitoxinhaltigen Mischung mit dem L—Werth hinzufügt.

Die der Maus Nr. 3085 eingespritzte Mischung enthielt in 0,4 Ccm. neben $^1/_{1000}$ A. E. 0,021 Ccm. Tet. G. IIa, und wir mussten zu dieser Mischung noch 0,002 Ccm. Tet. G. IIa zusetzen, um für die Maus Nr. 3087 den L†Werth zu bekommen.

Wird der Giftzusatz, welcher erforderlich ist zur Verwandlung einerseits des directen L—Werthes in den directen L†Werth mit „d", andererseits des indirecten L—Werthes in den indirecten L†Werth mit „D" bezeichnet, so ist d = 0,0011, D = 0,002. Der Unterschied von d und D wird nun um so grösser, je mehr Antitoxin die Mischung mit dem L—Werth enthält. Haben wir beispielsweise Antitoxin und Gift im folgenden Verhältniss gemischt:

In 4 Ccm. { 2,2 Ccm. Tet. G. IIa
$^1/_{10}$ A. E.,

und bringen wir davon einer Maus 0,4 Ccm. unter die Haut, dann wird damit gleichfalls der L—Werth erreicht; wollen wir diesen aber in L†Werth verwandeln, dann müssen der Mischung statt 0,002 Ccm. 0,2 Ccm. Tet. G. IIa hinzugefügt werden, sodass also in diesem Fall D 200 mal grösser ist als d. Diese interessante Thatsache hat Knorr (1897) in meinem Institut festgestellt. Ehrlich hat ähnliche Beobachtungen im Klinischen Jahrbuch (1897) gelegentlich der Mittheilung seiner Untersuchungen über Diphtheriegifte veröffentlicht und seine Toxoid-Theorie unter Zugrundelegung des D Werthes bei gleichzeitiger Annahme eines in einfachen Zahlenverhältnissen eintretenden Giftzerfalls entwickelt. Ich komme darauf noch an anderer Stelle zurück.

Wir können auch für antitoxinhaltiges Tetanusgift einen d Werth berechnen. Gesetzt den Fall, dass wir das Tet. G. IIa zur Prüfung bekämen, nachdem ihm ohne unser Wissen soviel Antitoxin zugesetzt ist, dass mit 0,4 Ccm. für Mäuse von 10 Grm. Gewicht der L†Werth erreicht wird, so enthält 1 Ccm. dieser Mischung $25 + Ms$. Wir erhalten dann den d Werth, wenn experimentell festgestellt wird, mit welcher kleinsten Dosis dieses Giftes der L—Werth erreicht wird. Dabei zeigt sich, dass das antitoxinhaltige Gift einen sehr grossen d Werth besitzt, der in einigen Versuchsreihen annähernd auf 1000 berechnet werden konnte, sodass also $1 + Ms = \text{ca. } 1000 + \underline{Ms}$ wurde.

Man kann auch auf anderem Wege solche Giftmodificationen bekommen, deren d Werth eine sehr bedeutende Grösse enthält. So kann man durch Sonnen-Belichtung frischer Culturfiltrate es erreichen, dass $1 + Ms = 100 + \underline{Ms}$ und darüber wird.

Tetanusgifte mit sehr hohem d Werth eignen sich für Immunisirungs- und Antitoxingewinnungszwecke viel besser, als Tetanusgiftlösungen mit kleinem d Werth, in welcher Thatsache der Grund dafür zu suchen ist, dass ich mich mit der Bestimmung dieser Werthe so eingehend beschäftige. Ein allgemein gültiger Ausdruck für den d Werth wird erhalten durch Ansetzen der Gleichung: $d = \frac{+\underline{Ms}}{+Ms}$. Wie wir weiter unten sehen werden, kommt dem d Werth auch eine sehr grosse theoretische Bedeutung zu.

Schon oben wurde erwähnt, dass mein Tet. G. IIa eine in grosser Quantität seit langer Zeit aufbewahrte Giftlösung ist. Sie besteht aus Bouillonculturfiltraten, die während der Jahre 1897, 98 und 99 in einen 50 Liter fassenden Ballon gegossen wurden. Die zur Gifterzeugung benutzte Cultur stammt von einem im Jahre 1895 untersuchten Tetanusfall beim Menschen; sie lieferte nicht immer gleich starke Gifte, und es

3. Ballon IIa-Gift Juli 1901: . . .	1 Ccm. = ca.	1,900.000 + ms 100.000 + Ms
4. „ „ Juli 1902: . . .	1 Ccm. = ca.	1,740.000 + ms 7.500 + Ms
5. „ „ Januar 1903: . . .	1 Ccm. = ca.	1,640.000 + ms 6.000 + Ms
6. „ „ Juni 1903: . . .	1 Ccm. = ca.	1,000.000 + ms 5.000 + Ms

Man sieht also, dass im Laufe von ca. 6 Jahren der directe Giftwerth von IIa um das 400 Fache verringert worden ist, der indirecte aber nur um die Hälfte. Anfangs waren die Culturfiltrate, aus welchen IIa zusammengesetzt ist, Gleichgifte; jetzt ist 1 + Ms = 200 + ms ($^1/_{200}$ Gift).

Der + ms Werth hat in Wirklichkeit wahrscheinlich überhaupt keine Veränderung erfahren. Ich möchte diese Vermuthung durch folgende Ueberlegung begründen.

Wir prüfen den indirecten Giftwerth an Mäusen immer nach dem Schema:

Ms $^{10 \text{ bis } 15}$ In 4 Ccm. { $^1/_{100}$ A. E. / ? Tet. G.
| Davon 0,4 Ccm. sk = L †.

Die Prüfungsdosis der Culturfiltrate, welche Tet.G. IIa zusammensetzen, war nun ursprünglich in diesem Schema bei einem Gehalt von 2,000000 + ms pro 1 Ccm. (Tet.TN$^{0.05}$) = 0,02 Ccm., im Juli 1899 war sie gleichfalls noch 0,02 Ccm., sie ist jetzt aber auf 0,04 Ccm. angestiegen. Die frischen Culturfiltrate enthielten in ihrer Prüfungsdosis

0,02 × 2,000.000 + Ms = 40.000 + Ms, dagegen
IIa im Juli 1899: 0,02 × 300.000 + Ms = 6.000 + Ms,
IIa im Juni 1903: 0,04 × 5.000 + Ms = 200 + Ms.

Es waren also für Maus-Individuen im Juni 1903 in der Prüfungsdosis 0,04 Ccm. viel weniger + Ms enthalten als 1899 in 0,02 Ccm. Nun halte ich es nach den bisherigen Erfahrungen für ganz sicher, dass Tet.G. IIa bei der fortgesetzten Aufbewahrung in 1 Ccm. immer weniger + Ms enthalten wird. Gesetzt den Fall, dass nach weiteren 10 Jahren der directe Giftwerth auf 100 + Ms pro 1 Ccm. zurückgegangen sein wird, und wir wollten dann die ursprüngliche Prüfungsdosis 0,02 Ccm. zur Feststellung des indirecten Giftwerthes nehmen, dann ist es ganz klar, dass beispielsweise bei einer Maus von 10 Grm. Gewicht der L † Werth nicht erreicht werden kann, weil ja die Maus durch 0,02 × 100 = 2 + Ms auch dann nicht getödtet werden könnte, wenn dem Gift gar kein Antitoxin zugesetzt wird. Eine Maus von 10 Grm. Gewicht (Ms ^{10}) braucht eben 10 + Ms als tödtliche Minimaldosis. Wir müssen deswegen mindestens 10 + Ms in der Prüfungsdosis haben, um zu L † zu gelangen, und das würde nach 10 Jahren erst mit der Prüfungsdosis 0,1 Ccm. Tet. G. IIa erreicht sein. Ich hoffe, dass diese Auseinandersetzung genügend klar legt, warum bei beträchtlich abnehmendem directem Giftwerth der indirecte Giftwerth auch dann niedriger erscheinen muss, wenn

in Wirklichkeit der Antitoxin-neutralisirende Werth sich nicht verän-dert hat.

Ich brauche aber gar nicht deductiv zu schliessen, dass im Jahre 1903 mit 1,000.000 + ms pro 1 Ccm. Tet. G. IIa der indirecte Giftwerth zu niedrig angegeben wird, sondern kann für diese Behauptung auch experimentelle Beweise von verschiedener Art beibringen.

1. Fügt man der im Juni 1903

hergestellten Mischungsdosis $\left.\begin{array}{l}0{,}03 \text{ Ccm. Tet. G. IIa} \\ {}^{1}/_{1000} \text{ A. E.}\end{array}\right\}$ mit dem L_0 Wert anderes Tetanusgift hinzu, so lässt sich zeigen, dass in diesem Mischungsverhältniss noch ein Giftüberschuss vorhanden ist, welcher die krankmachende Wirkung der zugefügten Giftdosis verstärkt.

2. Man kann ferner einen höheren indirecten Giftwerth dadurch nachweisen, dass man Antitoxin und Gift zwar im gleichen Verhältniss, aber in stärkerer Concentration zur Prüfung wählt, wodurch in die Prüfungsdosis mehr + Ms hineingelangen.

3. Man kann weiter dieselbe Concentration und dasselbe Mischungsverhältniss beibehalten, aber die Zahl der + Ms dadurch vermehren, dass eine grössere Quantität von der Mischung subcutan eingespritzt wird. Bei Mäusen ist das nicht gut angängig; wir werden aber sehen, dass es im Princip ganz gleichgiltig ist, welche Thierart wir zur Bestimmung des indirecten Giftwerthes wählen, und wir können somit das Vorhandensein eines Giftüberschusses durch die Wahl von grösseren Thieren bei solchen Mischungsverhältnissen noch mit voller Sicherheit nachweisen, die im Mäuseversuch gar keinen Giftwerth mehr erkennen lassen.

4. Endlich können wir zur Ermittelung des wahren indirecten Giftwerthes die Thatsache verwerthen, dass der directe Giftwerth nicht für alle Thierarten in gleichem Verhältniss reducirt wird, dass z. B. seine Verminderung im Tet. G. IIa für Kaninchen viel weniger bemerkbar ist als für Mäuse (s. u.).

Bei den Aenderungen der Versuchsanordnung zum Zweck der Ermittelung des indirecten Giftwerthes sind jedoch sehr subtile Berechnungen anzustellen über anzubringende Correcturen an den nackten Prüfungsergebnissen, wenn wir die Prüfungsdosen vergrössern oder andere Thiere in den Versuch hineinnehmen, sodass ich, so lange es irgend geht, mich immer streng an das oben beschriebene Prüfungsschema halte.

In früherer Zeit habe ich grosse Quantitäten von Tetanusgift, welches für Mäuse nur wenig oder garnicht giftig geworden war, als werthlos beseitigt. Seitdem ich weiss, dass solche Gifte ihren indirecten Giftwerth beibehalten und für die Antitoxingewinnung an Werth noch gewonnen haben durch ihre Abschwächung, bewahre ich sie sorgfältig auf, und das Tet. G. IIa wird mir wahrscheinlich dann am werthvollsten sein, wenn es für Mäuse ganz ungiftig geworden sein wird. Schon jetzt hat es nicht die geringste Gefahr, mit IIa Pferde in kurzer Zeit zu hohen Immunitätsgraden mit bedeutendem Antitoxingehalt zu bringen, während mir bei der Benutzung frischer Culturfiltrate für die Pferde-Immunisirung immer ein nicht unbeträchtlicher Procentsatz der Thiere an Tetanus zu Grunde ging. Für die Herstellung der sogenannten Grund-Immunität benutzte ich vor dem Jahre 1895 Jodtrichloridgifte, ohne zu

wissen, dass das Jodtrichlorid in kurzer Zeit qualitativ dieselbe Veränderung, nämlich die einseitige Verminderung des directen Giftwerthes, bewirkt, die wir als Folgeerscheinung des langen Aufbewahrens unter Toluol kennen gelernt haben.

Derartig modificirte Tetanusgifte, deren directer Giftwerth sehr viel kleiner geworden ist als der indirecte Giftwerth, nenne ich „abgeschwächte“ Gifte. In meinen „Beiträgen zur experimentellen Therapie“ habe ich im ersten und zweiten Heft eine grosse Zahl von Agentien aufgezählt, welche eine solche Giftabschwächung bewirken können. Insbesondere gehören dahin die ganz allmählich abschwächende Wirkung atmosphärischer Agentien, welche durch Belichtung sehr beschleunigt werden kann, die Contactwirkung mancher Metalle, von welchen Palladium-Präparate (Palladium-Asbest, Palladium-Schwamm und Palladium-Moor) obenan zu stellen sind, die Blutpassage im lebenden Kaninchenkörper und eine Reihe von chemischen Präparaten, unter welchen ich das Jodtrichlorid am genauesten studirt habe.

Dem gegenüber wird durch viele andere Agentien sowohl der directe wie der indirecte Giftwerth vernichtet. In dieser Beziehung stehen obenan das Tetanusantitoxin und hohe Temperaturgrade, wenn sie auf das gelöste Tetanusgift einwirken und zur definitiven Entgiftung führen.

Es schliesst sich hier die Frage an, ob es auch möglich ist, einseitig den indirecten Giftwerth zu vermindern. Das ist mir nun bei frischen Tetanusgiften nie gelungen, dagegen kann man bei stark abgeschwächten Giftlösungen den directen Giftwerth erhalten und dabei den indirecten Giftwerth sehr bedeutend vermindern durch Ammonsulfatbehandlung.

Von den Mitteln zur vollen Giftconservirung haben sich mir am besten bewährt die Pyrogallussäure und ein Kochsalzzusatz bis zu 10%. Auch ein mässiger Zusatz von Quecksilberchlorid oder übermangansaurem Kali übt conservirende Wirkung aus.

Ich muss scharf betonen, dass alle bisher berichteten Thatsachen an meiner Tetanusgiftlösung IIa im Mäuseversuch festgestellt worden sind, und dass es einer besonderen Untersuchung darüber bedarf, ob sie übertragen werden dürfen auf Tetanusgifte von anderer Herkunft und auf die Prüfungen an anderen Thieren.

Wie wenig das für eine ganze Reihe von Beziehungen zutrifft, wird sofort erkannt werden, wenn ich jetzt über meine Erfahrungen bei der Prüfung des Tet. G. IIa im Kaninchenversuch und im Meerschweinversuch berichte.

Zur kurzen Kennzeichnung der Giftprüfungsergebnisse in Kaninchenversuchen benutze ich analoge Abkürzungen wie in den Mäuseversuchen, nämlich:

1. Entsprechend dem Ausdruck für das Versuchs-Individuum, unter Angabe des Körpergewichts, z. B. für Maus 15 Grm. schwer = $\mathfrak{Ms}^{15}$, wird geschrieben für ein Kaninchen von 1000 Grm. Gewicht: „$\mathfrak{K}^{1000}$“.

2. Statt 1 Ms (1 Grm. Mäusegewicht): 1 K.

3. Statt 1 + Ms (tödtliche Minimaldosis für 1 Grm. Mäusegewicht = L† für 1 Ms): 1 + K.

4. Statt 1 + $\underline{\text{Ms}}$ (krankmachende Minimaldosis für 1 Grm. Mäusegewicht = L— für 1 Ms): 1 + $\underline{\text{K}}$.

5. Statt 1 + ms (tödtliche Minimaldosis der Mischung von Tetanusgift mit $^1/_{1000}$ AE für 1 Maus-Individuum = L† für 1 𝔐𝔰): 1 + k.

6. Statt 1 + $\underline{\text{ms}}$ (L— für 1 𝔐𝔰): 1 + $\underline{\text{k}}$.

7. Statt 1 — Ms (1 + ms in vitro neutralisirende Antitoxindosis): 1 — K.

8. Statt d für Mäuse $\left(\frac{+\underline{\underline{\text{Ms}}}}{+\text{Ms}}\right)$: d für Kaninchen = $\frac{+\underline{\underline{\text{K}}}}{+\text{K}}$.

Im Meerschweinversuch gelten die Zeichen 𝔐, M, 1 + M u. s. w.

Ueber meine Meerschweinversuche kann ich kurz hinweggehen mit folgenden Bemerkungen:

Der directe Giftwerth der frischen Culturfiltrate, sowie des für Mäuse allmählich sich abschwächenden Tetanusgiftes IIa, war durchschnittlich immer 5—6 Mal höher als der Mäusewerth. Er betrug ursprünglich in den frischen Culturfiltraten 10,000.000 + M und war im Juli 1902, als das Gift auf 7500 + Ms abgeschwächt war, bloss noch = 50,000 + M. Auch der d Werth für Meerschweine unterschied sich nie wesentlich vom d Werth für Mäuse.

Der + m Werth war stets gleich dem + ms Werth, so dass es ganz gleichgültig war, ob ich den indirecten Giftwerth an Mäusen oder an Meerschweinen prüfte. Wir können demgemäss auf den Ausdruck „+ m" ganz verzichten, da 1 + ms unter allen Umständen = 1 + m ist, und umgekehrt ist dann selbstverständlich auch 1 — Ms stets = 1 — M, d. h. unter Voraussetzung einer gleichen Prüfungsdosis vom Gift giebt die Antitoxinbewerthung im Mäuseversuch und im Meerschweinversuch identische Resultate. Dagegen fällt der D Werth für Meerschweine (= + m minus + $\underline{\text{m}}$) in der Regel anders aus, als der D Werth für Mäuse, worauf schon Buchner aufmerksam gemacht hat.

Eine genauere Besprechung erfordern die Kaninchenversuche, weil sie zum Theil zu einer ganz anderen Beurtheilung der giftigen Eigenschaften von IIa führen, als man nach den in Mäuseversuchen und Meerschweinversuchen gewonnenen Ergebnissen erwarten sollte.

Der + k Werth kann freilich gleichfalls als identisch mit dem + ms Werth und + m Werth gesetzt werden, wie überhaupt für alle von mir untersuchten Thierarten (Ziegen = ℨ, Schafe = 𝔖𝔠𝔥, Rinder = 𝔑𝔡, Pferde = 𝔓𝔣, Tauben = 𝔗, Hühner = ℌ, Enten = 𝔈, Gänse = 𝔊) der antitoxinneutralisirende (indirecte) Giftwerth immer derselbe bleibt, in dem Sinne, dass eine Mischung von Antitoxin und Gift, die für eine Thierart einen Giftüberschuss enthält, auch für alle anderen Thierarten giftige Eigenschaften besitzt. Der krankmachende Effect des Giftüberschusses muss naturgemäss ein anderer sein, wenn die Giftempfindlichkeit der mit einander zu vergleichenden Thierarten wesentlich verschieden ist, wie die nachfolgenden Erwägungen zeigen.

Kaninchen sind gegenüber den frischen Filtraten der Culturen von denjenigen Tetanusbacillen, mit welchen wir es hier zu thun haben, viel weniger giftempfindlich als Mäuse und Meerschweine. 1 Ccm. der frischen Culturfiltrate enthielt, bei 2,000.000 + Ms und 10,000.000 + M, nur 16.000 + K für grosse Kaninchen. Wenn man

nun einem Kaninchen von 2000 Grm. ($\mathfrak{K}^{2000}$) dieselbe Dosis mit dem L†Werth für Mäuse und Meerschweine = 0,4 Ccm. von der Mischung in 4 Ccm. $\left\{\begin{array}{l}100 \text{ A. E.} \\ 0{,}2 \text{ Ccm. Tet.-G. IIa}\end{array}\right.$ einspritzen würde, also neben dem Antitoxin im Ganzen 0,02 Tet.-G. IIa = $\frac{16\,000}{50}$ = ca. 300 + K, so würde für $\mathfrak{K}^{2000}$ unter keinen Umständen mit dieser Dosis L † erreicht werden, auch dann nicht, wenn wir sie ohne Antitoxin geben würden, da ja 300 + K nur für 300 Grm. Kaninchengewicht (= 300 K) die tödtliche Minimaldosis repräsentiren. Zufolge dieser Ueberlegung werden wir zur Feststellung des indirecten Giftwerthes viel grössere Prüfungsdosen in die Mischung von Antitoxin und Gift hineinnehmen müssen. Ich habe die Versuchsanordnung so gestaltet, dass ich 1899 einem kleinen Kaninchen das 100fache Multiplum in 4 Ccm einspritzte, also in 4 Ccm. $\left\{\begin{array}{l}1/40 \text{ A. E.} \\ 2{,}0 \text{ Ccm. Tet.-G. IIa,}\end{array}\right.$ und gleichzeitig einem Meerschwein und einer Maus von dieser Mischung je 0,4 Ccm., wonach für alle 3 Thiere der gleiche LWerth erreicht wurde, bemerkenswerther Weise aber nicht der L†Werth, sondern der L—Werth.

Diese Beobachtung, dass der relative Antitoxinbedarf zur Tetanusgiftneutralisirung in vitro mit steigender Dosirung immer geringer wird, hat ganz allgemeine Giltigkeit. Das ist um so mehr auffallend, als für das Diphthericantitoxin sich die Sache gerade umgekehrt verhält. Der relative Antitoxinbedarf zur Diphtheriegiftneutralisirung wird mit steigender Dosirung immer grösser. In meiner Arbeit „Experimentelle Begründung der antitoxischen Diphtherietherapie" (Deutsche Klinik. v. Leyden und Klemperer. Bd. I. 1901) habe ich übrigens mitgetheilt, dass diese Sätze auch für den Fall Geltung haben, dass Antitoxin und Gift getrennt den Thieren gegeben werden.

Worauf es mir hier vor Allem ankommt, ist die Betonung der Thatsache, dass der indirecte Giftwerth unter allen Umständen principiell gleich gefunden wird, welche Thierart man auch zu seiner Feststellung wählen möge.

Von diesem wichtigen Ergebniss habe ich practischen Gebrauch gemacht in meinen Immunisirungsversuchen bei grossen Thieren, wenn mir für die anfängliche Dosirung die schon antitoxinerzeugende, aber noch nicht das Leben bedrohende Quantität von einem beliebigen Gift unbekannt war. Ich stellte mir dann eine concentrirte Mischung von Antitoxin und Gift her, die in gegebener Menge kleinere Laboratoriumsthiere noch ganz leicht krank machte. In sehr zahlreichen Einzelversuchen an Pferden, Rindern, Ziegen u. s. w. konnte ich mit dieser Dosis ohne alle Gefahr beginnen und durch systematische Steigerung der Dosirung eine solide Grund-Immunität erzeugen, welche sich durch einen mehr oder weniger hohen Antitoxingehalt des Blutes kundgiebt. Von da ab kann man dann die Behandlung mit antitoxinfreien Giften weiterführen.

Für eine andere Reihe von Kaninchenversuchen gaben Beobachtungen an grösseren Thieren die Veranlassung, welche mir den Beweis zu liefern schienen, dass auch auf Individuen derselben Thierart die auf das Körpergewicht berechnete Gifteinheit sehr verschieden stark einwirken kann, und

zwar schien namentlich bei Pferden und Ziegen 1 + Pf. bezw. 1 + Z von jugendlichen Individuen erheblich kleiner zu sein als 1 + Pf bezw. 1 + Z von alten Individuen. Als ich nämlich junge Ziegen und junge Pferde unter Berücksichtigung des Körpergewichts einer solchen immunisirenden Behandlung unterziehen wollte, welche sich mir bei älteren Individuen als brauchbar erwiesen hatte, da misslang die Immunisirung, weil die Thiere durch die Giftbehandlung zu stark angegriffen wurden. Bei Mäusen und Meerschweinchen hatte ich keinen erheblichen Einfluss des Alters auf den Giftempfindlichkeitsgrad gefunden, und ich musste deswegen Bedenken tragen, ohne experimentelle Unterlagen eine stärkere Giftempfindlichkeit der jungen Thiere als Ursache der misslungenen Immunisirung anzusehen.

Der Kaninchenversuch zeigte nun in der That, dass es nicht ohne Weiteres gestattet ist, die Gifteinheit auf Gramm-Körpergewicht zu berechnen, und dass das Alter sogar einen sehr grossen Unterschied in der Giftempfindlichkeit bedingen kann. Während bei Kaninchen von 1500 Grm. und darüber 1 + K = ca. 160 + Ms von frischen Culturfiltraten gefunden wurde, betrug 1 + K bei Kaninchen von 900 Grm. ca. 100 + Ms und 1 + K bei Kaninchen unter 500 Grm. bloss 40 bis 50 + Ms.

Die nachfolgenden Angaben über den directen Giftwerth beziehen sich auf mittelgrosse Kaninchen von durchschnittlich 1000 bis 1200 Grm.; der besseren Uebersicht halber stelle ich die Werthe für Mäuse und Kaninchen nebeneinander.

Es wurden in 1 Ccm. gefunden:

Bei frischen Culturfiltraten 1897/99	2,000.000 + Ms	16.000 + K
Tet. G. IIa Juli 1899	300.000 + Ms	10.000 + K
„ „ 1901	100.000 + Ms	6.000 + K
„ „ 1902	7.500 + Ms	6.000 + K
„ Juni 1903	5.000 + Ms	6.000 + K

Ich habe nur diejenigen Prüfungstermine für das Tet. G. IIa hier angeführt, welche zur möglichst vollständigen Ermittelung der Hauptwerthe im Mäuse-, Meerschweinchen- und Kaninchenversuch gleichzeitig bestimmt waren; Einzelversuche namentlich an Mäusen sind aber ausserhalb der genannten Termine noch sehr häufig ausgeführt worden. Dabei zeigte sich eine ganz allmähliche gewissermaassen „gleitende" Abnahme des directen Giftwerthes.

Des Weiteren lehrt die obige Tabelle, dass die Tet. G. IIa-Abschwächung in ganz anderem Tempo für Mäuse erfolgt ist als für Kaninchen.

Mir scheint, dass von den meisten Forschern auf dem Gebiet der Infectionsgifte stillschweigend vorausgesetzt wird, dass ein im Meerschweinversuch abgeschwächt erscheinendes Diphtheriegift, ein im Mäuseversuch abgeschwächt erscheinendes Tetanusgift in den Versuchen an anderen Thieren und am Menschen die gleichen Abschwächungsphänomene zeigen würde, wenn man solche Versuche ausführen wollte. Dass eine solche Vorstellung durch experimentell festzustellende Thatsachen widerlegt werden kann, lehrt nicht bloss meine toxikologische Analyse des Tetanusgiftes, sondern auch die Erfahrung, welche wir bei der Untersuchung anderer Gifte machen.

Ich will zum Zweck der Demonstration meiner eigenen Auffassung

der Sachlage hier anführen, was wir von einem der am genauesten studirten Gifte, nämlich von der Blausäure wissen, und ich will bei dieser Gelegenheit gleichzeitig an Stelle der Ehrlich'schen Lehre vom Zerfall einer im Diphtheriegift-Molekül und im Tetanusgift-Molekül präexistirenden Vielheit von Giftgruppen (pluristische Hypothese oder Conglomerat-Hypothese) meine unitarische Giftkern-Hypothese der Darstellung zu Grunde legen.

Als Giftkern sehe ich in der Blausäure (HCN) die ungesättigte Gruppe C≡N (Cy) an, welche, wenn sie auf gewisse lebende Körper-
|
elemente einwirkt, Gesundheitsstörungen verursacht und unter eigenthümlichen Vergiftungserscheinungen den Tod herbeiführt. In vitro finden wir diesen Giftkern gebunden an sehr verschiedene chemische Körper:

an Wasserstoff: C≡N (Blausäure)
|
H

an die Hydroxylgruppe: C≡N (Cyansäure)
|
OH

an die Sulfidgruppe: C≡N (Thiocyansäure oder Rhodanwasserstoff)
|
HS

und

C≡N (Rhodankalium).
|
SK

u. s. w.

Je nach der Art des dem Giftkern angehängten Körpers findet man seinen Gifteffect im Thierversuch quantitativ verschieden. Bei gleicher Zahl von Cyan-Gruppen ist beispielsweise der Rhodanwasserstoff dem Cyanwasserstoff in der Giftigkeit so sehr nachstehend, dass man von einer antitoxischen Wirkung der Sulfidgruppe gegenüber dem durch die Cyangruppe repräsentirten Giftkern reden kann. Aber wie bei den Infectionsgiften, so darf man auch bei den Cyanverbindungen die bei einer Thierart festgestellten Giftabschwächungsphänomene nicht ohne Weiteres für alle anderen Lebewesen verallgemeinern; so ist beispielsweise das Rhodankalium für Frösche ein viel weniger abgeschwächtes Cyangift als für Warmblüter. Man kann Cyangiftabschwächungen auch durch andere Mittel herbeiführen, insbesondere durch Natriumhyposulfit, durch Eisensalze u. s. w. Immer handelt es sich aber um Adnexe an den Giftkern, welche je nach ihrer Besonderheit seine Wirkung auf den Thierkörper modificiren, ohne ihn sonst in seiner chemischen Integrität zu alteriren.

So kann man sich auch die Infectionsgifte als chemisch einheitliche Individuen vorstellen, an welche andere chemische Körper der verschiedensten Art sich anhängen und dadurch den Gifteffect verschiedenartig beeinflussen können; und mir scheint, dass diese Auffassung die Thatsachen, betreffend die zahllosen Reactionsveränderungen, welche eine und dieselbe giftige Substanz unter dem Einfluss des Lichtes, der Contactwirkung von Metallen, des atmosphärischen Sauerstoffes und vieler Che-

mikalien thierexperimentell erkennen lässt, einfacher erklärt, als Ehrlich's Hypothese vom Zerfall conglomerirter Molecüle in ihre einzelnen Componenten. Man braucht bloss noch die Hypothese zu Hilfe zu nehmen, dass die verschieden temperirten und verschieden zusammengesetzten Körperflüssigkeiten und corpusculären Elemente differenter Thierarten, sowie individuell differenter Lebewesen innerhalb der gleichen Thierart, Unterschiede aufweisen in der Art ihrer Einwirkung auf die Verbindungen zwischen Giftkern und Adnexen, bevor der Giftkern an die specifisch-giftempfindlichen Körperelemente herantritt, um zu verstehen, dass Kaninchen anders auf das Tetanusgift reagiren wie Mäuse, Kaltblüter anders wie Warmblüter, junge Kaninchen und junge Pferde anders wie alte Individuen dieser Thierarten u. s. w. Ich verkenne nicht, dass auch diese meine „Giftkern-Hypothese" discussionsfähig und discussionsbedürftig ist, und ich werde gern bereit sein, sie aufzugeben, wenn die weitere Forschung zu Gunsten Ehrlich's entscheiden sollte. Vorläufig aber kann ich mich noch nicht davon überzeugen, dass uns irgend eine Erfahrungsthatsache dazu zwingt, die Annahme einer Giftkern-Einheit für jedes der bis jetzt genauer studirten Bakteriengifte zu verwerfen.

Die Annahme eines einheitlichen Giftkerns in infectiösen Rohgiften schliesst die Möglichkeit nicht aus, dass dasselbe Bakterienindividuum die Veranlassung zum Auftreten mehrerer chemischer Körper in seinen Culturen wird, und dass diese Körper in verschiedener Art auf Lebewesen krankmachend wirken können. In Tetanusculturen treten eigenthümlich riechende Substanzen auf, welche, für sich gesammelt, möglicher Weise giftig wirken könnten. Wir finden darin ferner zuweilen eine die rothen Blutkörperchen auflösende Substanz. Ich habe aber typischen Tetanus erzeugende Präparate aus den Culturen hergestellt, welche weder die riechenden Bestandtheile der Tetanusculturen, noch ein Hämolysin enthielten, und ich habe dadurch den Beweis geliefert, dass die Muskelkrampf erzeugende Substanz mit dem Riechstoff und der blutkörperchenlösenden Substanz nichts zu thun hat. Aus diesem Beispiel ist die Lehre zu ziehen, dass man sich davor hüten muss, accidentell zusammengehörige oder zusammen vorkommende Dinge begrifflich zu einer essentiellen Einheit zu verschmelzen.

Ich betrachte nach alledem mein abgeschwächtes Tetanusgift IIa als die Auflösung einer Substanz, welche noch die ursprüngliche Zahl von Giftkern-Einheiten enthält, aber vielleicht an andere Giftkernträger gebunden, als zu der Zeit, wo die Giftkern-Einheiten sich in den frischen Culturfiltraten befanden. Chemische Analysen, welche nach einem von mir aufgestellten Programm von Prof. Ruppel ausgeführt worden sind, haben es mir wahrscheinlich gemacht, dass der hypothetische Giftkern, den ich mir im Wesentlichen zusammengesetzt aus Kohlenstoff- und Stickstoffatomen und versehen mit einer sehr lebhaften Reactionsfähigkeit denke, durch ein Nucleinsäurederivat repräsentirt wird. Die Fähigkeit der Nucleinsäure, Adnexe der verschiedensten Art aufzunehmen, ist allgemein anerkannt, und man könnte sich dann vorstellen, dass die Diffusionsfähigkeit des auf diese Weise vergrösserten Giftmolecüls viel geringer wird, sodass das abgeschwächte Giftmolecül viel langsamer zu den giftempfindlichen Theilen hingelangt als das originale Giftmolecül.

Durch vergleichende Gefrierpunktsbestimmungen (Ruppel und Ransom) ist in meinem Institut der erste Theil dieser Hypothese experimentell geprüft und, soweit ich erkennen kann, einigermaassen wahrscheinlich gemacht worden. Die Richtigkeit des zweiten Theils meiner Hypothese schien mir früher durch eine grössere Reihe von Erfahrungsthatsachen erwiesen zu sein, von welchen ich hier nur anführen will, dass bei gleichem krankmachendem Endeffect ein längeres Incubationsstadium bei den abgeschwächten Giften beobachtet wird als bei den nicht abgeschwächten, und dass durch solche Mittel, welche die Resorption mechanisch erschweren, den nicht abgeschwächten Originalgiften sofort der Charakter von abgeschwächten Giften verliehen wird. Zu diesen Mitteln rechne ich, ausser vielen anderen, die Einhüllung in Collodium, welche im Pasteur-Institute für die Erleichterung der Immunisirung zeitweise angewendet worden ist, die Fixirung der Gifte an gewisse Farbstoffe (Carmin) und die auf dasselbe hinauslaufende Behandlung der Gifte mit Gehirnsubstanz. Dass die Gehirnsubstanz nicht wie Blutantitoxin wirkt (Wassermann), wird schon dadurch bewiesen, dass die Gemische von Gift und Gehirnsubstanz zu ihrer Neutralisirung nicht weniger, sondern eher mehr Antitoxin nöthig haben, wie in dem Fall, wo die gleiche Giftmenge für sich mit Antitoxin neutralisirt wird.

Wenn nach alledem das Vorkommen einer Giftabschwächung durch den Hinzutritt fremder Körper zum genuinen Giftmolecül — nach Analogie der geschwefelten Cyanverbindungen — mir zum Mindesten im Bereich der Möglichkeit zu liegen scheint, so bin ich doch durch meine fortgesetzten Studien allmählich noch zu einer ganz anderen Hypothese gelangt.

Danach wird dem genuinen Giftmolecül, wenn es abgeschwächt wird, weder etwas Materielles weggenommen, noch hinzugefügt; aber es erleidet eine Verlangsamung seiner Reactionsgeschwindigkeit, sodass der Neutralisirungsvorgang beim Zusammentreffen des Giftes mit seinem Antikörper längere Zeit in Anspruch nimmt.

Der Vermuthung, dass dem so sei, habe ich namentlich von da ab immer mehr Spielraum in meinem Denken gewähren müssen, wo der Siedentopf'sche Ultraapparat auf meine Veranlassung von den Herren Römer und Siebert in meinem Institut benutzt worden ist zum Studium der optischen Eigenschaften genuiner, modificirter und denaturirter Tetanusgift- und Diphtheriegiftlösungen.

Der Siedentopf'sche Apparat ist im Stande, die genuinen Proteinmolecüle des Blutserums, sowie anderer Albumin- und Globulinlösungen, für das menschliche Auge direct sichtbar zu machen. Blutserum verhält sich gegenüber diesem Apparat ähnlich wie eine colloidale Lösung von Gold, Silber, Platin u. s. w. Die Zahl der in 1 Ccm. frischem Blutserum zu unterscheidenden Molecüle ist ausserordentlich gross. Man muss sorgfältig filtrirtes normales Pferde-Blutserum etwa 100000mal verdünnen, bis man soweit gekommen ist, dass bei 700 facher Vergrösserung die Reduction auf einzelne Molecüle im Gesichtsfeld eintritt. Verwandelt man das Serum-Protein durch Kochen bei hohem Druck in Atmidalbumose,

so wird die Zahl der sichtbaren Molecüle ungefähr um's 50fache verringert, Witte'sches Pepton enthält, pro 1 Grm. Trockensubstanz berechnet, ungefähr 50 mal weniger Molecüle wie 1 Grm. Trockenserum. Pepton, welches im hiesigen Institut durch längere Einwirkung von Pepsin-Salzsäure auf Pferdeserum gewonnen wurde, enthält in der gleichen Gewichtsmenge Trockensubstanz ca. 400 mal weniger sichtbare Molecüle, und wir sind zu der Ueberzeugung gelangt, dass richtige Peptonlösungen (im Kühne'schen Sinne) keine Molecüle mehr enthalten, von der Art der im genuinen thierischen Blutserum zu findenden. So war z. B. ein von Dr. Loewi biuretfreies erhaltenes Pankreasverdauungsproduct vollkommen frei von sichtbaren Molekeln. Im Harn nierenkranker Menschen macht der Apparat Molecüle sichtbar, welche denen des Blutserums durchaus ähnlich sind, und es scheint, als ob der Siedentopf'sche Ultra-Apparat berufen ist, für qualitative und quantitative Eiweissbestimmungen im Harn eine ähnliche Rolle zu spielen, wie die Polarisationsapparate für die Untersuchung von Zuckerlösungen.

In unserer Nährbouillon für die Gewinnung von Tetanusgift und Diphtheriegift zählen wir durchschnittlich 400 mal weniger Molecüle wie im Blutserum; ob und inwieweit diese präexistirenden Protein-Molecüle für die Bacterienvermehrung und die Giftproduction herangezogen werden, ist noch Gegenstand eifrig fortgesetzter Untersuchungen der Herren Römer und Siebert. Jedenfalls aber sprechen die vergleichenden Untersuchungen von giftigen Culturfiltraten, vor und nach ihrer Modification durch die Einwirkung verschieden hoch bemessener Erhitzung, nicht für die Abhängigkeit der Abschwächungsprocesse von Veränderungen der Moleculargrösse.[1])

1) In nachfolgender Tabelle stelle ich die von Römer und Siebert gefundenen Zahlenverhältnisse in Bezug auf die sichtbaren Molecüle in einer Reihe von Untersuchungsobjecten übersichtlich zusammen:

2—4 Molecüle in einem Gesichtsfeld des Ultra-Apparates wurden gezählt, wenn verdünnt wurde:	? mal	Verhältnisszahlen
1. Frisches normales Pferdeserum	100 000	1
2. Frisches antitoxisches Pferdeserum	300 000	3
3. 10 proc. Globulinlösung aus Pferdeserum	20 000	1/5
4. Milchserum	800 000	8
5. 10 proc. Lösung von Wittepepton	2 000	1/50
6. 10 proc. Lösung von Pancreasverdauungsproduct hergestellt von Dr. Loewi	—	1/∞
11. 10 proc. Atmid-Albumosen aus Pferdeserum	2 000	1/50
12. Marburger Nährbouillon	250	1/400
7. Harn bei geringer Albuminurie	500	1/200
8. Harn bei starker Albuminurie	20 000	1/5
9. Harn eines gesunden Menschen:		
a) nüchtern vor dem Frühstück	50	1/2000
b) nach dem Mittagessen (reichliche Entleerung)	20	1/5000
c) um 11 Uhr Abends	20	1/5000
d) Mischprobe des 24 stündigen Harns	25	1/4000
10. 10 proc. Gelatinelösung	4 000	1/25
11. 10 proc. Agarlösung	10 000	1/10

Aus dieser Tabelle ergiebt sich ohne Weiteres die Anwendbarkeit des Ultra-

Wir sind freilich auch weit davon entfernt, auf optischem Wege meine oben ausgesprochene Vermuthung von der verlangsamten Energientwickelung abgeschwächter Giftmolecüle schon jetzt einwandsfrei bestätigen zu können. Nachdem aber diese Hypothese im Gefolge der vorher beschriebenen Versuche erst einmal in meinem Denken Gestalt gewonnen hat, sehe ich, dass viele bis dahin schwer verständliche experimentelle Ergebnisse mit ihrer Hülfe ziemlich leicht erklärt werden können.

So habe ich z. B. die Thatsache, dass man mit abgeschwächtem Tetanusgift Kaninchen besser immunisiren kann, bisher mir in der Weise plausibel gemacht, dass ich annahm, ein durch den Giftabschwächungsprocess vergrössertes Tetanusgiftmolecül werde weniger resorptionsfähig. Der experimentelle Beweis für diese Hypothese ist mir bis jetzt aber nicht gelungen, und ich fange nunmehr an, mich an den Gedanken zu gewöhnen, dass ein Giftmolecül die ihm anhaftende specifische Energie weniger schnell abgiebt an vitale Actionscentren, wenn es durch irgendwelche Agentien abgeschwächt worden ist in dem Sinne, dass zwar sein directer aber nicht sein indirecter Giftwerth eine Verminderung erfahren hat. Bei beiden Hypothesen, bei der Molecularvergrösserungs- wie bei der Energieentwickelungs-Hypothese, spielt das Zeitmoment eine wesentliche Rolle. Bis auf Weiteres muss ich mich aber mit dem Hinweis darauf begnügen, dass wir noch einen weiten Spielraum für Hypothesenbildung haben, wenn es sich darum handelt, das mysteriöse Gebiet der Immunitätsthatsachen unserem naturwissenschaftlichen Verständniss zugänglich zu machen. Inzwischen scheint mir das eine schon jetzt sicher zu sein, dass wir die immunisirende Leistungsfähigkeit eines gegebenen Tetanusgiftes zwar auf verschiedene Art erhöhen können, dass aber alle derartigen Methoden

---

Apparates für die quantitative Bestimmung colloidaler Proteinmolecüle in ihrer Lösung.

Ich möchte ausserdem noch auf die Bedeutung dieses Apparates für die Lösung wichtiger theoretischer Probleme aufmerksam machen.

Seit dem Jahre 1895 beschäftigen sich physiologische Chemiker mit dem Studium der sogenannten „Plasteinbildung“ in concentrirter Albumosenlösung unter dem Einfluss von Pepsin, Trypsin und Papayotin; seitdem nämlich Okouneff Flocken- oder Gallertenbildung durch den Fermentzusatz in concentrirten Lösungen der Spaltungsproducte von Eiweisskörpern beobachtet hat.

Im September-Heft von Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische Chemie (S. 305 ff.) wird nun von Herzog die Viscosităts-Zunahme einer „Reversion“, d. h. einer Rückbildung der Spaltungsproducte, in dem Sinne zugeschrieben, dass die Fermente eine Synthese der Spaltproducte zu complicirten Körpern bewirken.

Unter Berücksichtigung der Thatsache, dass die käuflichen Pepton- und Albumose-Präparate, welche in Marburg von Römer und Siebert untersucht worden sind, stets eine grosse Zahl colloidal gelöster, also noch nicht gespaltener, Proteinmolecüle enthielt, lag mir der Gedanke nahe, dass die Zunahme der Viscosität nicht zurückzuführen ist auf eine Synthese, sondern auf die Ausscheidung von präexistenten grossen Molecülen unter dem Einfluss einer Neutralisierung der energiebeladenen und dadurch in colloidaler Lösung gehaltenen Proteinmolecüle durch entgegengesetzt geladene Fermentmolecüle, genau so wie colloidale Molecüle schleimig oder flockig niedergeschlagen werden durch jede andere Art der Entladung. Wenn diese Vermuthung richtig ist, muss die fermentbehandelte Peptonlösung in dem Maasse, wie sie viscos wird und Flocken ausfallen lässt, eine Verminderung der colloidal gelösten Molecüle erfahren. Die im Gange befindlichen Experimente werden zu beweisen haben, ob meine Voraussage eintreffen wird oder nicht.

darauf hinauslaufen, das Gift von dem centralen Nervensystem abzulenken und soviel wie möglich statt dessen auf peripherische Theile des Organismus einwirken zu lassen.

In diesem Sinne bin ich geneigt, auch die neuen Immunisirungsversuche des Herrn Geh.-Rath Prof. H. Meyer zu deuten, welche ich im Folgenden wörtlich nach seinem mir am 26. 11. 03 übergebenen Bericht citiren will.

Herr H. Meyer hat mich ermächtigt, an dieser Stelle in seinem Namen Folgendes zu publiciren:

„Um Kaninchen gegen Tetanusgift isopathisch zu immunisiren, bedarf es nach den bisherigen Erfahrungen einer langwierigen Behandlung, indem den Thieren in geeigneten, der eintretenden Reaction entsprechend zu bemessenden, Intervallen Tetanusgift in systematisch gesteigerter Dosirung subcutan injicirt wird. Nach frühestens sechswöchiger Behandlung wird dann in günstigen Fällen ein Antitoxingehalt von etwa $^{1}/_{10}$ A. E. in 1 Ccm. Blut bezw. dem daraus gewonnenen Serum erreicht. Ich habe nun gefunden, dass auf einem anderen Wege sich in kürzerer Zeit und mit grosser Sicherheit ein wesentlich höherer Grad von Immunität erzielen lässt.

Durchschnürt man nämlich bei einem Kaninchen die Hauptnervenstämme eines Hinterbeines und injicirt dann unter die Haut des gelähmten Gliedes Tetanusgift, so kann es nicht wie sonst durch die Nerven dieser Extremität direct zum Centralnervensystem aufsteigen und dieses vergiften, sondern wird, soweit es nicht in den peripherischen, abgeschnürten Nervenstrecken und Endapparaten haften bleibt, langsam durch die Lymphbahnen zu den Blutgefässen fortgeführt, um erst auf diesem Umwege intacte motorische Nervenbahnen und damit schliesslich das Centralnervensystem zu erreichen. Unter solchen Umständen werden viel grössere Giftmengen als sonst ohne krankmachende Wirkung ertragen, und es hat

21. 6. Wirbelsäule etwas nach links verzogen
24. 6. Trocken-Tet. G. 700 + ms p. g. subcutan am l. Hinterb.
4. 7. „ 1400 + ms „ „ „ „ „ „
6. 7. „ 2200 + ms „ „ „ „ „ „
11. 7. Blut entnommen; 1 Ccm. Serum enthält 0,2 A. E.

Versuch 2. Kaninchen von 2000 Grm., am 14. 10. die Nerven des linken Hinterlaufs durchschnürt.
15. 10. Trocken-Tet. G. 200 + ms p. g. l. hinten subcutan
20. 10. „ 400 + ms „ „ „ „ „
24. 10. „ 1000 + ms „ „ „ „ „ keine Vergiftungssymptome
28. 10. „ 2000 + ms p. g. l. hinten subcutan
1. 11. „ 5800 + ms „ „ „ „ „
3. 11. Blut entnommen; 1 Ccm. Serum enthält 0,4 A. E.
5. 11. „ 11000 + ms p. g. l. hinten subcutan
6. 11. starkes Oedem und Schwellung an der Injectionsstelle, keine Spur tetanischer Erscheinungen
9. 11. Blut entnommen, 1 Ccm. Serum enthält 0,45 A. E.

Bemerkenswerth ist in dem zweiten der Versuche die nach der 6. Giftinjection (etwa 80fach tödtliche Minimaldosis) beobachtete Localreaction, wie sie sonst bei Kaninchen nicht, wohl aber bei „überempfindlich gewordenen“ Pferden aufzutreten pflegt, wenn diese einen bedeutenden Antitoxingehalt im Blute haben.“

Ich kann diesen Versuchsprotokollen, welche einer später zu veröffentlichenden grösseren Tetanusarbeit des Herrn Geh. Rath H. Meyer entnommen sind, noch hinzufügen, dass von den bisher bekannten Immunisirungsmethoden die combinirte Behandlung mit Antitoxin und Gift noch am schnellsten eine beträchtliche Antitoxinhäufung im Blute bewirkt, dass in meinem Institut aber selbst nach 8 Wochen langer Vorbehandlung von Kaninchen diese Methode nicht soviel geleistet hat, wie die Meyer'sche Methode im Versuch No. 2 nach dreiwöchentlicher Vorbehandlung.

Mir scheint nun dieses Versuchsergebniss ein neuer Beweis für die Richtigkeit meiner Annahme zu sein, dass die Grösse der immunisirenden Leistungsfähigkeit eines Tetanusgiftes von sehr verschiedenen Faktoren abhängig sein kann, die aber nichts zu thun haben mit der essentiellen Eliminirung einer hypothetischen toxophoren Gruppe, sondern durchweg in intimem Zusammenhang stehen mit einer mehr oder weniger ausgiebigen Verhinderung des Gifteintritts in die direkt zu den Ganglienzellen des centralen Nervensystems führenden Resorptionsapparate.

Man erkennt leicht, wie ich immer von Neuem bei der Analyse der immunisirenden Leistungen modificirter Tetanusgifte auf Erklärungsversuche zurückkomme, welche die Ursache ihrer besseren Geeigentheit zur Antitoxinerzeugung nicht in einer Befreiung des genuinen Gift-

molecüls von schädlichen (toxophoren) Gruppen suchen, sondern in d
Ablenkung des Giftes von lebenswichtigen Centralorganen nach solch
cellulären Elementen, deren Vergiftung für den Gesammtorganismus e
weniger grosse Schädigung und keine Lebensgefahr bedeutet.

Für diese Auffassung der Sachlage, welche mir das Auffind
praktisch wichtiger Schutzimpfungsmethoden, nicht bloss beim Teta
sondern auch bei anderen Infectionskrankheiten, sehr erleichtert h
spielt die Giftconstitutionsfrage eine viel weniger wichtige Rolle, als b
der Auffassung Ehrlich's, nach welcher die immunisirenden Giftleistun
im Wesentlichen abhängig sind von besonderen, antitoxinerzeugend w
kenden Gruppen innerhalb des Giftmolecüls, welche man von d
toxischen Gruppen befreien und isolirt zur Immunisirung verwend
könne. Ich meinerseits kann deswegen in Ruhe abwarten, ob die w
tere Forschung zu Gunsten meiner unitarischen Giftkern-Hypoth
oder zu Gunsten von Ehrlich's Conglomerat-Hypothese entscheid
wird, oder ob wir — was mir am wahrscheinlichsten ist — zu n
ungeahnten (bezw. in der Fachliteratur noch nicht discutirten) V
stellungen von der chemischen Natur des Tetanusgiftes gelangen werd

---

Inzwischen bin ich vollkommen einig mit Ehrlich in Bezug a
unser Urtheil über die fundamentale Bedeutung der Frage nach d
specifischen Angriffspunkten im lebenden Thierkörper, sowie der Fra
nach dem intimeren Mechanismus der Einwirkung des Giftes auf bele
Körperelemente; aber bei den Versuchen, diese Fragen auf naturwiss
schaftlichem Boden der Entscheidung näher zu führen, sind wir wieder
im Laufe der letzten Jahre vielfach auseinandergegangen, zumal bei d
Consequenzen, welche die Frankfurter Schule aus Ehrlich's Seite
kettentheorie gezogen hat.

Nichts liegt mir ferner als die Seitenkettentheorie in ihrem auss
ordentlich grossen Werth für unser toxicologisches Denken herabzusetz
Selbst wenn sie in späterer Zeit in vollem Umfange nicht besteh
bleiben sollte, müssten wir ihr immer noch deswegen eine epochemache
Bedeutung beimessen, weil sie die Zusammenfassung der unendlich
Fülle von toxicologischen und therapeutischen Einzelthatsachen auf d
Gebiet der Infectionskrankheiten für eine einheitliche Betrachtung ermö
licht hat. In aller Welt werden jetzt neugewonnene experimentelle Da
auf diesem Gebiet in Ehrlich's Sprache discutirt und publicirt, u
eine unübersehbare Menge von Anregungen zu vertieftem Denken ist v
der Seitenkettentheorie ausgegangen.

Nach meiner persönlichen Ueberzeugung steckt in dieser Theo
überdies ein Gehalt von unvergänglichem erkenntnisstheoretischem Wer
Im ersten Heft dieser „Beiträge“ (S. 949) habe ich mich darüber u
gefähr folgendermassen ausgesprochen: „Alle Versuche, die Frage na
der Ursache für die therapeutischen Leistungen eines Infectionsstoff
(bei geeigneter Dosirung und Applicationsweise) gegenüber einer Kran
heit, die durch eben denselben Infectionsstoff erzeugt ist, befriedigend z
beantworten, waren gescheitert, bis Ehrlich eine neue Hypothese i
die Erklärungsversuche einführte. Der Hauptinhalt der Ehrlich'sch
Hypothese lässt sich mit folgenden Sätzen wiedergeben:

1. Ein Infectionsgift ist krankmachend nur für solche Individuen, welche eine dieses Gift chemisch bindende Substanz in lebenden Körperelementen besitzen.

2. Wenn giftbindende Substanz aus den lebenden Körperelementen (Zellen) ausgestossen wird und in die Blutflüssigkeit gelangt, dann wird sie zum schützenden und heilenden Antikörper gegenüber dem in Frage kommenden Gift.

Noch kürzer lässt sich die Ehrlich'sche Hypothese folgendermassen zusammenfassen:

Dieselbe Substanz im lebenden Körper, welche, in der Zelle gelegen, Voraussetzung und Bedingung einer Vergiftung ist, wird Ursache des Krankheitsschutzes und der Krankheitsheilung, wenn sie sich in der Blutflüssigkeit befindet. Dieser Satz erinnert lebhaft an den Hippokratischen Ausspruch: „Dasselbe, was eine Krankheit erzeugt, heilt sie auch"; mit dem grossen Unterschied jedoch, dass der Satz des Hippokrates mysteriös-dogmatisch geblieben ist, während Ehrlich's Behauptung der naturwissenschaftlichen Analyse und experimentellen Untersuchung zugängig ist."

Im Sinne der so charakterisirten Ehrlich'schen Hypothese sind alle meine experimentell-therapeutischen Studien ausgefallen, und wenn ich trotzdemdie von den meisten Forschern angenommene sprachliche Terminologie Ehrlich's mir nicht angeeignet habe, dann ist das nicht etwa unterblieben aus unberechtigtem Eigensinn oder weil ich über die Richtigkeit des oben citirten Inhalts der Seitenkettentheorie eine weniger zuversichtliche Meinung bekommen hätte, sondern weil meine eigenen Untersuchungen mich zu solchen experimentell bestätigten Deductionen aus der genialen Hypothese Ehrlich's geführt haben, welche sich in seiner Sprache nicht richtig wiedergeben lassen.

Der Hauptunterschied zwischen E.'s und meiner Art und Weise, den intimeren Mechanismus der Vergiftung und ihre Beziehungen zur Antikörperproduction zu interpretiren, lässt sich darauf zurückführen, dass ich weniger Neigung habe zu personificiren wie E.; ich komme häufig mit der Annahme von energetischen Unterschieden aus, wo E. essentielle (somatische) Unterschiede bei der Analyse der Eigenschaften und Leistungen einer in ihrer Zusammensetzung uns unbekannten Rohsubstanz glaubt annehmen zu müssen.

Wie grosse sprachliche Differenzen bedingt werden durch diesen Unterschied in der Vorstellungsweise, selbst bei der Analyse der physiologischen Leistungen eines so einfachen und scheinbar so allgemein bekannten Körpers, wie des Sauerstoffs, mögen die nachfolgenden Bemerkungen illustriren: Es giebt eine giftige und eine als ungiftig geltende Form, in welcher wir den Sauerstoff kennen. Die Chemiker schreiben die giftige Modification (Ozon): „O_3", den vulgären Sauerstoff „O_2" und den atomistischen Sauerstoff, welcher als solcher nicht existenzfähig ist, „O". Es hindert uns Nichts, die toxische Function im Ozon blos einem der hypothetischen Sauerstoff-Atome zuzuschreiben; dann hätten wir einen toxophoren Pol, welcher ebenso wie der andere (haptophore) Pol dem als Amboceptor dienenden Sauerstoffatom angefügt ist, so dass raumsinnlich dargestellt das Ozon-Molecül folgende Gestalt haben würde:

O——O (Amboceptor)
(Haptophore |
Gruppe) O (toxophore Gruppe).

Solche raumsinnlichen Vorstellungen entsprechen aber nicht nothwendiger Weise der Wirklichkeit, und ich selbst bewege mich lieber in den energetischen Anschauungsformen der neueren Physiker, welchen zufolge speciell im Ozon-Fall das Ozon vom inactiven Sauerstoffmolecül sich durch ein Plus von Energie unterscheidet. W. Ostwald („Grundlinien der anorganischen Chemie". 1900. S. 84) schreibt beispielsweise Ozon = Sauerstoff + Energie, für welche Auffassungsweise er die Thatsache anführt, dass man den vulgären Sauerstoff durch Behandlung mit elektrischen Schwingungen gewissermaassen laden kann, und das Ozon, wenn es in vulgären Sauerstoff übergeht, Wärme entwickelt. Mit der Energiebeladung geht eine Volumverminderung des materiellen Trägers der Sauerstoffwirkung einher, derart, dass bei gleichem Gewicht das Ozon nur $66^2/_3$ pCt. von dem Volumen des vulgären Sauerstoffs einnimmt. Man kann sich das veranschaulichen, wenn man sich zwei gleich grosse Kugeln vorstellt, welche beide je eine im dynamischen Gleichgewicht befindliche Sauerstoff-Einheit repräsentirt; die eine aber mit zwei Sauerstoffatomen, die andere mit drei Sauerstoffatomen:

1. (Vulgärer Sauerstoff) (O O)   2. Ozon (O O / O)

Es ist leicht einzusehen, dass der Sauerstoff in dem Molecül sub 1 unter kleinerem Druck steht wie der Sauerstoff sub 2, was zur Folge hat, dass das dreiatomige Molecül eine neue Verbindung mit grösserer Energie eingeht wie das zweiatomige Molecül. Ich lege keinen Werth darauf, ob in Wirklichkeit die Unterschiede in den Eigenschaften und Leistungen des vulgären Sauerstoffes und des Ozons durch die hier wiedergegebene Darstellung genügend und richtig erklärt werden. Mir kommt es hier nur darauf an, dass ich in dubio diejenige Interpretation, welche mit der Homogenität der Ozonkomponenten rechnet, vorziehe der einen Wesensunterschied in den hypothetischen Sauerstoffatomen des Ozons voraussetzenden Erklärung. Ich folge da dem alten Grundsatz „Causas praeter necessitatem non esse multiplicandas."

Bei der auf das Ozon angewendeten Homogenitäts-Hypothese habe ich es nur mit einer personificirten „causa" zu thun. Alle Theile des Ozonmoleculs bethätigen sich gleichartig an der toxischen Ozonwirkung. Wer dagegen annimmt, dass das Ozon seine toxische Wirkung einer besonderen toxophoren Gruppe verdankt, muss Wesensunterschiede in dem materiellen Träger der Ozonwirkung voraussetzen. Diese Voraussetzung führt, wie man in dem obigen Beispiel sieht, zu einer „Drei-Einigkeitslehre".

So hat man ja auch die Gesammt-Phänomene unserer Sinneswelt bald auf eine, bald auf zwei, bald auf drei und noch mehr personificirte „causae" zurückgeführt. Die Theologie und die Kirchengeschichte weiss von heissen Kämpfen zu erzählen, in welche die Meinungsverschiedenheit

in Bezug auf die Zahl und Art der personificirten Weltursachen ganze Völker hineingezogen hat. Auf naturwissenschaftlichem Gebiet, wo wir allen Grund haben, jede Personification von Ursachbegriffen skeptisch zu betrachten, können wir ähnliche Meinungsverschiedenheiten viel ruhiger diskutiren![1])

Das Beispiel vom Sauerstoff ist vielleicht auch geeignet, uns eine Vorstellung davon zu verschaffen, wie möglicher Weise die von mir als Ursache einer Tetanus-Giftabschwächung vermuthete Verlangsamung der Reactionsgeschwindigkeit zu Stande kommt, ohne dass materielle Bestandtheile von dem Gift abgespalten oder ihm hinzugefügt werden.

Bei Betrachtung der oben gezeichneten Figuren 1. für vulgären oder inactiven Sauerstoff und 2. für Ozon könnte man immer noch sagen, dass ja thatsächlich die toxische Ozonwirkung verknüpft sei mit dem Hinzutritt eines Sauerstoffatoms, dass also die Ozonisirung doch mit der Addition von Materie zusammenhängt. Aber man kann die Umwandlung von inactivem Sauerstoff in Ozon auch noch auf andere Weise bildlich darstellen, nämlich so, dass man sich wiederum zwei mit Sauerstoff gefüllte Kugeln denkt, von denen aber beide die gleiche Sauerstoffmasse enthalten. Selbstverständlich wird dann die Ozonkugel um $33^1/_3$ pCt. kleiner sein, wie die Sauerstoffkugel:

3. (Sauerstoffkugel) (O_O) ($^3/_3$)   4. (Ozonkugel) (OO) $^2/_3$.

Der Ozonsauerstoff, welcher sich unter stärkerem Druck im dynamischen Gleichgewicht befindet und diesem Umstande, wie wir annehmen

---

1) Ueber die Bildungsweise und über die Eigenschaften des Ozons sind in jüngster Zeit von den Herren Richarz und Rudolf Schenck in Marburg Untersuchungen angestellt worden, deren Ergebnisse mir von allergrösster Bedeutung zu sein scheinen.

R. und Sch. haben nachgewiesen (durch das Dampfstrahlphänomen, durch die Leitfähigkeit u. s. w.), dass bei der Bildung des Ozons und bei seinem Zerfall Sauerstoffjonen auftreten, welche (wie früher schon Goldstein gezeigt hatte) als $\overset{+}{O}$- und $\overset{-}{O}$-Jonen fungiren können, von welchen aber die letzteren eine grössere Stabilität besitzen. Ozon, welches einige Zeit aufbewahrt ist, hat dagegen keine freien Jonen, also auch keine Leitfähigkeit. Die Ozon-Formel wäre $\left(O_2(O\overset{-}{E})\overset{+}{E}\right)$. Beim Zerfall des Ozonmoleküls wird Wärme abgegeben. Es verhält sich wie die schon bekannten radioactiven Substanzen; es lassen sich an ihm auch Fluorescenz-Phänomene nachweisen und man darf vielleicht die katalytischen Ozonwirkungen auf Emanationen zurückführen, wie sie Ramsay in Cassel vom Radium geschildert hat. Wenn die hier nach einer mündlichen Mittheilung der Herren Richarz und Schenck wiedergegebene Vorstellung von der Constitution des Ozonmoleculs, wie ich nicht bezweifle, sich bewähren sollte, dann würde zwar bei der Ozonentstehung und bei der Ozonzersetzung eines von den drei hypothetischen Sauerstoffatomen sich von den beiden anderen unterscheiden müssen; das fertige Ozonmolecül könnte aber trotzdem homogen sein, da ja $\overset{+}{E}$ und $\overset{-}{E}$ sich schliesslich neutralisiren müssen.

Für meine Vorstellung von einer intramolecularen Druckdifferenz im O_2 und O_3 kann ich übrigens folgendes Citat aus Ostwald (l. c. S. 82) anführen: „Wenn man reinen Sauerstoff dem Einfluss elektrischer Schwingungen aussetzt, so verändert er seinen Raum, indem er sich zusammenzieht."

wollen, seine Giftigkeit und seine übrigen Sondereigenschaften verdankt, wird toxisch abgeschwächt, wenn er in den Zustand übergeführt wird, in welchem wir ihn gewöhnlich kennen. Dieser ungiftige Zustand unterscheidet sich somit von dem giftigen durch die geringere Reactionsgeschwindigkeit, mit welcher der Sauerstoff in neue chemische Verbindungen eintritt.

Wie nun der inactive Sauerstoff als abgeschwächt-allotroper Zustand des Ozonsauerstoffs betrachtet werden kann, so ist vielleicht auch ein abgeschwächtes Tetanusgiftmolecül nichts weiter als ein bei der Bluttemperatur tetanusgiftempfindlicher Thiere beständigerer und deswegen langsamer seine Energie abgebender, allotroper Zustand des genuinen Tetanusgiftmolecüls.

Wer mit mir den theoretischen Betrachtungen, betreffend das Wesen der Abschwächung des Tetanusgiftes, diese Allotropie-Hypothese zu Grunde legt, der kann unmöglich die Abschwächungsphänomene auf den Verlust einer hypothetischen toxophoren Gruppe zurückführen, womit gleichzeitig gesagt ist, dass ich meine eigene Auffassung vom tetanischen Vergiftungs- und Entgiftungsprocess nicht in Ehrlich'scher Terminologie wiedergeben kann.

Im Folgenden will ich den Versuch unternehmen, in einer Sprache, welche keine anderen als die in der Chemie und Physik schon geläufigen Voraussetzungen macht, den intimeren Mechanismus des Tetanusvergiftungsprocesses, wie ich ihn mir vorstelle, dem medicinischen Leser verständlich zu machen.

In diesem Mechanismus bilden diejenigen genuinen Proteinmolecüle der Ganglienzelle, welchen sowohl nach der Vorstellung von Ehrlich wie nach der meinigen eine giftneutralisirende Fähigkeit zuzuschreiben ist, integrirende Bestandtheile. Sie befinden sich, wie ich annehme, sowohl innerhalb der corpusculären Zellelemente, wie im Plasma gelöst, und zwar in dem letzteren in Gestalt von colloidalen, activen (polarisirten) Molecülen, und sie werden neben anderen colloidalen Proteinmolecülen durch den Siedentopf'schen Ultra-Apparat in ähnlicher Weise sichtbar gemacht, wie colloidal gelöste Metallmolecüle, mit welchen sie eine weitgehende Analogie besitzen.

Man kann an den colloidal gelösten polarisirten Metallmolecülen dreierlei unterscheiden:

Erstens die Ladung mit Elektronen (⊕ und ⊖),

zweitens den materiellen Träger der imponderablen Elektrone, welchen ich „Somaton" (◯) nennen will, und

drittens die chemische Affinität des Somatons, die ich durch einen aussenstehenden Strich (◯—) andeute.

Das ganze elektrisch geladene Molecül (⊕— bezw. —⊖) ist nach

ıeiner Vorstellung mit ähnlichen Eigenschaften begabt, wie ein Kation ezw. ein Anion. Alles das gilt von colloidal gelösten activen Protein-Iolecülen, speciell vom tetano-antitoxischen Molecül, ebenso, wie von olloidal gelösten Metallmolecülen.

Colloidal gelöste Molecüle weisen aber im Einzelnen doch auch :nterschiede auf im Vergleich mit den Jonen der Elektrolyte; sie sind iel grösser und schwerer, weswegen sie nach der Einschaltung in einen ;alvanischen Stromkreis einen sehr bedeutenden Reibungswiderstand zu ıberwinden haben bei der Wanderung von einer Elektrode zur anderen. Iit ihrer Grösse und Schwere hängt es zusammen, dass sie die Neigung haben, an der entsprechenden Elektrode auszufallen (was in üngster Zeit benutzt worden ist zur Ausfällung der colloidalen or-;anischen Molecüle in der weichen Torfmasse und zur industriell be-riebenen Torftrocknung). — Im Gegensatz zu den Anionen und Kationen ensu strictiori halten die colloidalen Molecüle ferner sich innerhalb der ɔsenden Flüssigkeit im Gleichgewicht ohne die Gegenwart entsprechender ıntikörper, und es findet in der colloidalen Lösung eine einseitige Vanderung von einer Elektrode nach der anderen statt. Auch darf wohl ngenommen werden, dass die Wanderungsgeschwindigkeit colloidal gelöster Iolecüle wegen des viel grösseren Reibungswiderstandes relativ klein ist.

Was wir bis jetzt von polarisirten colloidal gelösten Molecülen 'issen, steht durchaus nicht im Widerspruch mit der Annahme, dass ie mit entgegengesetzt polarisirten Somatonen ähnliche Neutralisirungs-rocesse eingehen, wie die Anionen und Kationen eines Elektrolyten, nd wenn vulgäre Jonen zu ihrer Neutralisirung bis zu einem gewissen irade specifische Antikörper nothwendig haben, so werden wir Aehn-iches auch von den colloidal gelösten Molecülen erwarten dürfen.

Der dynamische Gleichgewichtszustand colloidal gelöster Molecüle 'ird nach der physikalischen Neutralisirung, also nach Aufhebung ihrer 'olarisation — wobei die Frage, ob die neutralisirten atomistischen :lektrone ($\oplus$) reale Existenz haben, von Nernst aufgeworfen worden st — alterirt; sie werden inactiv und von den vitalen Proteinmolecülen :ann man sagen, dass sie absterben; sie hören auf, die sogenannten :atalytischen Wirkungen auszuüben, welche man an ihnen im activen :ustande beobachten kann.

Unter dem Bilde einer solchen elektrischen, also physikalischen, Neutralisirung stelle ich mir auch das Inactivwerden antitoxischer und ɔxischer Molecüle vor, wenn sie mit einander in Contact gerathen.)ieser Contact kann aber nur hergestellt werden in einem Medium, 'elches für beide Arten von Molecülen ein Lösungsmittel darstellt, 'oraus für mich auch die Specifität des Lösungsmittels resultirt, 'elche ich als Conductor „C" bezeichne.

Allen diesen Vorstellungen vom Zustandekommen des Neutrali-irungsvorganges zwischen dem antitoxischen Molecül $\left(\frac{\searrow A}{-}\right)$ und dem ɔxischen Molecül $\left(\frac{t}{+}\right)$ in dem beiderseitigen Lösungsmittel C ent-prechen meine Formeln:

$$\underset{-}{A} \; \underset{+}{t} \text{ plus } C = \left(\underset{-}{A} \; \underset{+}{t}\right)^{1)} C = (At)\, C.$$

Unter der Voraussetzung der Brauchbarkeit dieser Formel habe
mir dann vom Vergiftungsvorgang, beispielsweise nach der **subcutan**
Injection des Tetanusgiftes eine Theorie zurecht gemacht, deren wes
licher Inhalt sich folgendermassen wiedergeben lässt:

Ich nehme an, dass das Cytoplasma der Ganglienzelle alle B
standtheile des Kerns und der Plasma-Körnchen, worunter sich a
A Molecüle befanden, in **gesättigter** Lösung enthält, und dass
flüssig gedachte Axencylindersubstanz die gleiche Zusammensetzung b
sitzt, wie das Ganglienzellen-Cytoplasma, wodurch die Nerven-Ein
bedingt wird, welcher man den Namen „**Neuron**" gegeben hat.

Wenn dann $\underset{+}{t}$ in die Wirkungssphäre der Axencylindersubst
an der Endausbreitung eines Nerven geräth, so findet zunächst e
Attraction statt zwischen dem polarisirten, und dadurch **activen** Tetan
giftmolecül und seinem in der Axencylindersubstanz sich in **gesättig**
Lösung befindenden Antikörper $\underset{-}{A}$.

Man kann es dahingestellt sein lassen, ob die Attraction pri
bloss in einer Elektronwanderung sich äussert, oder ob das Soma
gleich mitgeht [2]), ob also zum Inactivwerden von $\underset{-}{A}$ und $\underset{+}{t}$ der m
terielle Contact und damit gleichzeitig die **chemische** Neutralisir
nothwendig ist oder nicht; für die folgenden Ausführungen spielt d
Frage keine entscheidende Rolle.

Ich nehme an, dass $\underset{-}{A}$ und $\underset{+}{t}$ sich in bestimmten Proporti
neutralisiren und den Körper (At) liefern, wodurch im Axencylin
im Bereich der Neutralisirung, gewissermaassen ein Vacuum für
entsteht. Der Gleichgewichtszustand in der normalerweise mit

1) Vielleicht ist es richtiger zu schreiben:

$$\left(\underset{- - - -}{A} \quad \underset{+ + +}{t}\right) C \text{ oder } \left(A''' \; t\right) C.$$

2) **Anm.** Helmholtz sagt (citirt nach dem Lehrbuch der Experimen
physik von A. Berliner 1903 S. 527): „Es ist nicht der wägbare Theil, der
der Elektrode angezogen wird: dann müssten die Ionen auch nach ihrer Entladun
der Elektrode noch festhaften. Wir müssen vielmehr schliessen, dass
Ionen nur weil und solange sie elektrisch geladen sind, zur entgeg
gesetzt geladenen Elektrode gezogen werden. Demgegenüber will Ner
(Theoretische Chemie, 1898, S. 638) die isolirte Elektronenwanderung besch
wissen auf metallisch leitende Stoffe. Er sagt: „Der Transport der Elektrici
leitenden Stoffen kann in zweierlei Weise erfolgen, mit oder ohne gleichzeitigen T
port von Materie; letzteres geschieht in den metallisch, ersteres in den elekt
lytisch leitenden Stoffen, auch Leiter erster und zweiter Klasse genannt." (Vgl.
l. c. S. 376 ff.) Da nun colloidale Proteinmolecüle sich in ihrem Verhalten den c
dalen Metalllösungen mehr nähern, als den elektrolytisch leitenden Stoffen, so
auch nach Nernst die Frage noch offen, wie es hier mit der Möglichkeit und W
lichkeit einer isolirten Elektronwanderung steht. Auf alle Fälle steht die Anna
einer Wirkung in distans in dem Sinne, dass von dem neuralen Antikörper
Attraction durch den Conductor hindurch auf das materielle Tetanusgiftmolecül
geübt wird, ohne dass Antikörpersomaton und Giftsomaton sich unmittelbar berü
nicht ausserhalb einer naturwissenschaftlichen Denkmöglichkeit.

gesätttigten flüssigen Axencylindersubstanz wird nämlich dadurch aufgehoben. Nach bekannten physikalischen Gesetzen muss dem Bestreben, den Gleichgewichtszustand wiederherzustellen, Genüge geleistet werden, was nur durch Zuströmen von $>\!\underline{A}$ in das entstandene Vacuum von centralwärts gelegenen Partien des Axencylinders her geschehen kann. Inzwischen wandern auch $>\!\underset{+}{t}$ Molecüle, vermöge ihrer polaren Affinität zu $\underline{A}$, im Axencylinder aufwärts, vereinigen sich von Neuem mit ihrem Antikörper und so weiter fort, bis die immer lebhafter werdenden Bewegungsvorgänge vom Axencylinder auf den Ganglienzelleninhalt übergreifen, dort in den Cytoplasmakörnchen und schliesslich im Kern Lockerung der Structur und Strömungen hervorrufen, von denen ich annehme, dass sie in den Goldscheider-Flatau'schen Versuchen dem menschlichen Auge direct sichtbar gemacht worden sind. (Vgl. Zweites Kapitel S. 41 ff.)

Ich verzichte an dieser Stelle darauf, weiterhin anseinanderzusetzen, wie man den Mechanismus des Zustandekommens eines Muskeltetanus im Gefolge der Vergiftung möglicherweise interpretiren und andere symptomatische Phänomene erklären könnte.

Mir kommt es ja nur darauf an, statt der raumsinnlichen Darstellungsweise Ehrlich's, dem Leser dieser Arbeit meine energetische Auffassung soweit verständlich zu machen, dass man mir das Recht zugesteht, in meiner eigenen Zeichensprache von den Dingen zu reden, über deren Existenzbedingungen ich im Grunde genommen kaum anderer Meinung bin wie Ehrlich.

Ganz gleichgiltig freilich scheint mir die Art der Mittheilung beobachteter Naturvorgänge für den wissenschaftlichen Fortschritt nicht zu sein. Wir können ja immer nur in Bildern und Gleichnissen reden und damit den Versuch unternehmen, uns gegenseitig verständlich zu machen. Nun sind aber die Wortbilder grösstentheils so vieldeutig, dass sie kaum jemals als ein zutreffender Ausdruck gelten können für das, was wir sagen wollen. Die Worte unterliegen ganz unvermeidlich mit der fortschreitenden Bereicherung unserer Kenntnisse einem Begriffswandel, und es kommt mir schon jetzt so vor, als ob die vielen Forscher und Literaten, welche die neueingeführten Ehrlich'schen Worte gebrauchen, nur scheinbar dieselbe Sprache reden; ebenso wie die Philosophen, Theologen und andere Vertreter sogenannter Geisteswissenschaften weit davon entfernt sind, mit den gleichen Worten auch den gleichen Sinn zu verbinden.

Nach meiner Meinung sind die naturwissenschaftlichen Fortschritte ganz wesentlich verknüpft mit dem Gebrauch scharf umschriebener Begriffs-Symbole, mit der Zeichensprache der Mathematiker, Chemiker und Physiker, und so glaube ich auch, dass die biologischen Forschungen für die Dauer auf den Gebrauch von Zeichen mit quantitativem Begriffsinhalt nicht werden verzichten können, wenn sie aus dem Gebiet der speculativen Philosophie in das Gebiet exacter Naturforschung übergeleitet werden sollen.

Zweites Kapitel.

Zur Tetanusvergiftungs-Theorie.

In guter Uebereinstimmung befinden sich meine Abschwächungshypothesen, insofern als sie auf der Annahme eines die Ablenkung der Giftwirkung vom Centralnervensystem bedingenden Moments beruhen, mit den Thatsachen, welche Ransom, Hans Meyer, Gumprecht, Courmont, Doyon, Bruneschettini, Marie, Morax in Bezug auf die Vertheilung des Tetanusgiftes im thierischen Organismus uns kennen gelehrt haben*)

Spritzt man eine Tetanusgiftlösung einem giftempfindlichen Individuum unter die Haut, so gelangt es zunächst zum grössten Theil in die Lymphgefässe und von diesen aus in das Blut. Zum kleineren Theil wird es von den intramusculären Endigungen der motorischen Nerven aufgenommen, die es dem Axencylinder zuführen. Die Giftmolecüle wandern im Axencylinder nur centripetal weiter, und nur solange, als der Nerv noch intacte Axencylindersubstanz enthält. Im degenerirten Axencylinder, z. B. einige Tage nach der Nervendurchschneidung, hört die Giftstoffwanderung vollständig auf. Solange als nach der Nervendurchschneidung noch keine Degeneration eingetreten ist, findet man die Giftstoffwanderung blos verlangsamt, aber nicht aufgehoben. Muskeltetanus tritt erst dann auf, wenn der Giftstoff zu den Rückenmarkscentren gelangt ist, vorausgesetzt, dass dabei der Schwellenwerth für die Reizwirkung in den giftempfindlichen Ganglienzellen überschritten ist. Ceteris paribus wird dieser Schwellenwerth nach einer um so kürzeren Zeitdauer überschritten werden, je mehr Giftmolecüle in einer gegebenen Flüssigkeitsmenge enthalten sind, wodurch die Abkürzung der Incubation mit der Vergrösserung der Giftdosis ohne Weiteres erklärt wird. Ebenso leicht verständlich ist es, dass das Gift innerhalb der kürzeren intraneuralen Bahnen kleiner Thiere ceteris paribus zu den centralen Ganglienzellen schneller transportirt werden wird, als innerhalb der längeren intraneuralen Bahnen grosser Individuen, und es versteht sich endlich von selbst und wird durch das Experiment bestätigt, dass man will-

---

*) Anmerkung: Literaturangaben und ihre sachverständige Analyse findet man mustergültig in der Arbeit von Hans Meyer und Ransom aus dem Marburger Pharmakologischen Institut im Arch. f. exp. Path. u. Ther. Bd. XLIX („Untersuchungen über den Tetanus“).

kürlich die Incubationsdauer verkürzen kann durch directe Einbringung des Giftes in die Nervencentren selbst, oder in solche Nervenabschnitte, die den Nervencentren benachbart sind. Bei Katzen, die nach subcutaner Injection auch der grössten Giftdosen nie ein kürzeres Incubationsstadium zeigen als 28—30 Stunden, kann man beispielsweise schon durch eine relativ kleine Giftdosis, wenn sie in das Rückenmark eingespritzt wird, die Muskelstarre nach 3 Stunden auftreten sehen (H. Meyer und Ransom, l. c. S. 382).

Der local von den intramusculären Nervenendigungen aufgesogene Giftantheil, welcher zum Nervenstamm und zu den Ganglienzellen des Rückenmarks in ähnlicher Weise fortwandert, wie gelöste Stoffe im Erdboden durch die Wurzeln in den Baumstamm und von da zu den Zellen der Endorgane des Baumes (Marie und Morax), bedingt die primäre Uebertragung des Ganglienreizes auf einzelne Muskelpartien (localisirter Tetanus); erst hinterher, wenn das Gift im Rückenmark weiterwandert und immer neue Ganglienzellen befällt, tritt allgemeiner Tetanus auf.

Der auf dem Wege der Lymphbahnen in das Blut gelangte Giftantheil kann seinerseits auch nur von den Nervenendigungen aus zu den nervösen Centralorganen gelangen und führt bei kleinen Thieren von vornherein zu allgemeinem Tetanus, was man experimentell demonstriren kann durch intravenöse Giftinjection. Bei grossen Individuen bedingen die Längenunterschiede der intraneuralen Bahnen, beispielsweise wenn einerseits von den Lymphbahnen und vom Blute aus der Weg von dem unteren Theil einer Extremität aus, andererseits der Weg von einer Kopfpartie aus bis zu dem zugehörigen Rückenmarkscentrum zurückgelegt werden soll, beträchtliche Differenzen in der Transportdauer, was in dem primären Auftreten tetanischer Erscheinungen an den Kinnbacken- und Augenlidmuskeln der Pferde — auch nach intravenöser Vergiftung — zum Ausdruck kommt.

Welche Theile in den giftempfindlichen Zellen es sind, die das Tetanusgiftmolekül attrahiren und von ihm angegriffen werden, entzieht sich vorläufig noch unserer Kenntniss. Ich glaube aber genügenden Grund zu der Annahme zu haben, dass diese Theile sowohl im Kern, wie im Cytoplasma zu suchen sind, und dass in diesem auch gewisse gekörnte Bestandtheile, welche vielleicht als Aequivalente der Trophoplasten (Arthur Meyer) in den Pflanzenzellen gelten können, giftbindend wirken.

Die weiteren Consequenzen würden dann entsprechend der genialen Conception Ehrlich's zu deuten sein, wonach sich vermehrende Substrate des Tetanusangriffs als antitoxisch wirkende Bestandtheile in das Blut abgestossen werden, wo sie in der Blutflüssigkeit gelöst, also extracellulär, sich vorfinden und dann selbstverständlich nicht mehr vermehrungsfähig, aber doch noch mit einem Rest von Vitalität begabt, circuliren und bei der Blutgerinnung in das Serum übertreten.

Es entsteht nun die Frage, ob die das Tetanusgift attrahirenden Molecüle noch in anderen Zellen, als bloss in den Ganglienzellen, oder gar, wie manche Autoren angenommen haben, bloss in motorischen Ganglienzellen, normaler Weise existiren.

Für die Beantwortung dieser Frage haben wir mancherlei Anhaltspunkte.

Ganz ausser Frage gestellt ist die Existenz von Tetanusgift-Angriffs-

substraten in sensiblen Ganglienzellen des Rückenmarks, wo aber naturgemäss die auf sie vom Tetanusgift ausgeübte Reizwirkung nicht zum Muskelkrampf führen kann. Statt dessen tritt eine Gesundheitsstörung ein, welche ihr Entdecker Hans Meyer mit dem Namen „Doloroser Tetanus" bezeichnet hat. Es ist eine einfache logische Folgerung meiner Hypothese, wenn ich annehme, dass auch die nutritive und generative Reizwirkung, welche vom Tetanusgift auf seine Angriffs-Substrate in der sensiblen Zellen ausgeübt wird, zu einer Abstossung von antitoxischer Substanz in das Blut führen kann, und um so eher führen wird, weil bei einer relativ starken Vergiftung die Reizwirkung in den motorischen Ganglienzellen zu ihrer Degeneration führt, während die sensiblen Ganglienzellen noch genug Gift abbekommen zur Erreichung des Schwellenwerthes für die generative, nicht aber für die degenerative Reizung.

Dass ausser den im centralen Nervensystem gelegenen Ganglienzellen auch noch andere Zellkörper Gegenstand der Reizung durch das Tetanusgift sein können, scheint mir eine ganz nothwendige Hypothese zu sein, wenn man die Thatsache berücksichtigt, dass das Tetanusgift in relativ hoher Dosirung ein exsudaterzeugendes Mittel ist. Man beobachtet die Entstehung grosser subcutaner, zuweilen auch in den serösen Höhlen gelegener Exsudate besonders dann, wenn zum centralen Nervensystem dem Gift durch circulirendes Antitoxin der Weg abgesperrt ist und wenn man dann krankmachende, aber nicht tödtliche Giftdosen, zumal von einem abgeschwächten Gift, dem Versuchsthier einverleibt. Ich schliesse daraus, dass das Tetanusgift sympathische Ganglienzellen angreift und betrachte demgemäss auch diese als Träger der hypothetischen Antitoxinproducenten.

Viel weniger gesichert scheint mir die Annahme, dass neben den Ganglienzellen noch andere Zellkörper Träger der Angriffssubstrate für das Tetanusgift sind. Wer die lichtvollen Auseinandersetzungen von Hugo de Vries über „Intracellulare Pangenesis" (1889 bei Gustav Fischer, Jena) sorgfältig in ihrer Bedeutung für die uns hier beschäftigenden Fragen zu Rathe zieht, dem wird die Möglichkeit einer Mitbetheiligung auch nicht-nervöser Zellkörper bei den Processen, die sich an eine Tetanusvergiftung anschliessen, nicht von der Hand weisen können. Aber von der Möglichkeit zur Wirklichkeit ist ein weiter Schritt. Verschiedenartig angeordnete Versuche bei meinen dem Säugethiertypus angehörigen Laboratoriumsthieren liessen von einem Angriff des Tetanusgiftes auf Zellen nicht-nervösen Ursprungs nichts erkennen. Dagegen schienen mir einige Beobachtungen an Hühnern in dem Sinne gedeutet werden zu können, dass das bei dieser Vogelart nach dem Tetanusgiftimport im Blut auftretende Antitoxin, zum Theil wenigstens, von nicht-nervösen Zellelementen seinen Ursprung ableiten könnte; wenn das später einmal einwandsfrei bewiesen werden würde, so wäre für mich gleichzeitig damit der Beweis geliefert, dass auch ausserhalb des Nervensystems die tetanusgiftbindenden Elementartheile eine intracelluläre Existenz haben können.

Wenn die Forschungen vieler und hervorragender Beobachter durch lie Analyse der Vorgänge, welche sich im lebenden Organismus an die Einverleibung von Tetanusgift anschliessen, gegenwärtig bis zu einem gewissen Grade eine befriedigende Vorstellung von dem Mechanismus les Zustandekommens der Vergiftung, der Entgiftung und des Infectionsschutzes ermöglicht haben, so bleibt die Zahl der ungelösten Probleme loch noch sehr gross. Ich will nicht alle hier aufrollen, sondern bloss einige garnicht zu umgehende Probleme etwas genauer umgrenzen.

Ein Problem von essentieller Art ist die Frage nach der chemischen Natur des Tetanusgiftes und des Antitoxins.

Mit vielen anderen Forschern habe ich aus Dialyseversuchen und aus der Art der Fällungsmittel für die giftige Substanz in einem Tetanusrohgift diese Substanz den Albumosen an die Seite gestellt. Die neueren Untersuchungen von Tetanusgiftlösungen im Ultra-Apparat lassen mich aber annehmen, dass damit sehr wenig gesagt wird (vergl. Erstes Capitel), und ich will meine Vermuthungen inbezug auf die substantielle Natur des in Tetanusgiftlösungen specifisch wirksamen Agens lieber für eine spätere Auseinandersetzung zurückstellen, und der Ausdruck „Toxalbumose" soll hier nur provisorische Geltung haben.

Dagegen halte ich es für endgiltig bewiesen, dass nur genuine Proteine (Albumine und Globuline) Träger des Tetanusantitoxins sein können. Angaben über eiweissfreie Antitoxine (Pröscher u. A.) haben der Nachprüfung in meinem Institut nicht standgehalten.

Gegenüber den anders lautenden Angaben von Tizzoni, Ender und Sternberg, Freund und Sternberg, W. Geng u. s. w. muss ich daran festhalten, dass im antitoxischen Blut sowohl die Albumine wie die Globuline antitoxische Wirksamkeit besitzen (vgl. meine ausführliche Kritik über diesen Gegenstand in „Experimentelle Begründung der antitoxischen Diphtherietherapie". Deutsche Klinik von v. Leyden und F. Klemperer. 1901). Von erheblichem Interesse ist die Thatsache, dass in der Milch von Kühen, welche isopathisch gegen Tetanus immunisirt worden sind, nur die aus dem Blut stammenden Globuline und Albumine antitoxisch wirksam sind, während das von den Milchdrüsenzellen abstammende Kasein unwirksam gefunden wird, woraus hervorgeht, dass die Zellen der Milchdrüse dem Tetanusgift keine Angriffspunkte gewähren. Diese Thatsache hat mich, neben vielen anderen, zu der Annahme geführt, dass die hypothetischen tetanusgiftempfindlichen Elemente bei Säugethieren nur innerhalb von Zellen des Nervensystems vorkommen.

Mit der Annahme, dass das Tetanusgift in seinen Lösungen als Albumose, das Antitoxin als genuines Protein auftritt, stimmen die Ergebnisse meiner Dialyse-Versuche überein, insofern als eine Giftlösung viel leichter durch Dialysatoren hindurchgeht wie eine Antitoxinlösung, woraus geschlossen werden kann, dass das Antitoxinmolekül viel grösser ist wie das Giftmolekül. Gelegentlich meiner Dialyseversuche bekam ich den Eindruck, als ob das Antitoxin derart eine Attraction auf die Giftmoleküle ausübt, dass ceteris paribus mehr Gift durch den Dialysator in eine Lösung von antitoxischem Protein übergeht als in eine Lösung von nicht antitoxischem Protein. Mit einem derartigen Verhalten würde in gutem Einklang stehen die ausschliesslich centripetale Giftstoffwanderung in der Richtung nach den materiellen Substraten für den

Giftangriff in den Zellen, für welche Substrate ich von jetzt ab de Ehrlich'schen Ausdruck „Gift-Receptoren" anwenden werde.

Unter der Voraussetzung einer Gift-Attraction Seitens der intra-cellularen Receptoren, unter der weiteren Voraussetzung der Neuronen-Theorie, unter Anerkennung endlich meiner physiologischen Begründung des Vorkommens der Receptoren ausschliesslich in Ganglienzellen und in der Axencylindersubstanz ist die ascendirende (centripetale) Giftstoffwanderung innerhalb der Axencylindersubstanz der peripherischen Nerven leicht verständlich, ebenso wie die Anwesenheit eines Giftüberschusses in den m Receptoren versehenen Ganglienzellen nach so grossem Giftimport, dass danach Degeneration dei Zelle erfolgt.

Consequenter Weise wird umgekehrt zu schliessen sein, dass Zellen welchen die Receptoren fehlen, wegen der mangelnden Giftattraction, t vergleichender Untersuchung viel weniger Gift aufweisen müssen, als die d oben genannten Categorien von Ganglienzellen, was in Bezug auf Zellen drüsiger Organe im Experiment leicht bestätigt werden kann.

Nun hat in meinem Institut schon vor 4 Jahren Ransom gezeigt dass ganz auffallend gering der Giftgehalt der blutfreien Gehirnsubstanz auch nach sehr starker Vergiftung ausfällt. Das könnte a priori zurückgeführt werden auf eine sehr starke, giftneutralisirende Kraft der Gehirn-Gangliensubstanz; das kann aber auch auf einem Mangel der Gehirnganglienzellen an Receptoren beruhen. Meine eigenen Untersuchungen haben mich mehr und mehr zu der letzteren Auffassung geführt, u durch die schönen und überaus wichtigen vergleichenden Experimente von V. Morax und A. Marie (Mai-Heft 1903 der Annales de l'Institut Pasteur) aus Roux's Laboratorium halte ich die Annahme, dass in der That die cerebralen Neurone zur activen vitalen Tetanusgiftaufnahme nicht befähigt sind, zum mindesten nicht für widerlegt.

Das ausschliessliche Gebundensein der Antitoxinwirkung an genuine Proteïne lässt darauf schliessen, dass die Angriffspunkte für die G.-function, welche nach meiner Vorstellung mit dem Blutantitoxin identisch sind, in solchen Zellenbestandtheilen liegen, welche aus genuinem Protein bestehen. Dieses genuine Proteïn der Ganglienzellen ist möglicherweise chemisch verschieden von genuinem Proteïn anderweitigen Ursprungs und vielleicht werden wir noch dazu gelangen, es von den sonstigen Eiweissstoffen des Blutes zu trennen. Bei dem gegenwärtigen Stande der Eiweisschemie ist aber die Aussicht dazu nicht sehr gross, und ich selbst habe nach vielfachen fehlgeschlagenen Versuchen auf weitere Arbeiten nach dieser Richtung vorläufig verzichtet. Nach meiner Vorstellung verschwinden die Ganglienzellen-Proteïne im Blut, wie eine kleine Menge löslicher Proteïnsubstanz in einem grossen See.

In jüngster Zeit habe ich mit Much in dem Zusatz von Kernfarbstoffen ein differentialdiagnostisches Mittel zur Unterscheidung von antitoxischem und nicht antitoxischem Serum gefunden, glaube aber, dass die verschiedene Färbbarkeit nicht bedingt wird durch das ∖A in meiner Formel (S.25), sondern durch einen Mehrgehalt des antitoxischen Serums an .(

Dass das antitoxische Eiweiss functionell verschieden ist von dem gewöhnlichen Bluteiweiss, hat nicht ohne Weiteres zur Folge, dass es auch chemisch davon verschieden sein muss. Und eben so wenig ist es eine unabweisliche Forderung, dass das antitoxische Eiweiss chemisch

ein anderer Körper geworden sein muss, wenn er unter dem Einfluss der Tetanusgiftwirkung in den antitoxisch unwirksamen Zustand übergeht.

Irgend etwas muss sich ja dabei geändert haben; aber ähnlich wie die metallischen Leiter positiver und negativer Elektricität vor und nach dem Ausgleich ihrer activen Zustände im Sinne der chemischen Analyse dieselben Körper bleiben, so könnte es auch sein, dass das antitoxische Eiweiss ein mit specifischer Energie beladener Körper ist, der durch Contact inactiv wird, ohne dass dabei eine Aenderung seiner chemischen Constitution für uns zu Tage tritt.

Wir sind mit dieser Ueberlegung schon in die Discussion der functionellen Probleme eingetreten, die sich an das Studium des Tetanusgiftes und des Tetanusantitoxins anschliessen.

Was wir darüber mit Bestimmtheit wissen, das ist einzig und allein die Thatsache des partiellen oder totalen Unwirksamwerdens von Gift und Antitoxin — je nach dem Mengenverhältniss der aufeinander einwirkenden giftigen und antitoxischen Substrate.

Ueber das „Wie" des Unwirksamswerden, mit anderen Worten „über den Mechanismus des Zustandekommens der gegenseitigen Inactivirung", können wir nur Vermuthungen aussprechen.

Wenn Ehrlich eine chemische Bindung zwischen Giftmolecül und Antitoxinmolecül seiner Analyse der im Thierexperiment zu beobachtenden Neutralisirungsverhältnisse zu Grunde legt, so ist das keine Beobachtungsthatsache, sondern eine Vermuthung, und zwar eine Vermuthung, die als erster ich selbst lancirt habe gelegentlich meiner Polemik mit H. Buchner (1893—94), um die Lehre dieses Forschers zurück zu weisen, nach welcher die schützende und heilende Antitoxinwirkung zu Stande kommen sollte durch die Beeinflussung lebender Körperzellen durch das Antitoxin. Ich halte nach wie vor daran fest, dass das nicht der Fall ist, dass vielmehr das Antitoxin seine therapeutische Leistungsfähigkeit einzig und allein der Entgiftung des Giftträgers verdankt. Ehrlich hatte wohl ursprünglich mehr an einen Abbau des Giftmolecüls als Ursache der Entgiftung gedacht, als an eine Neutralisirung durch Bindung im Sinne der Chemiker. Wenigstens spricht dafür der von ihm eingeführte Ausdruck „Giftzerstörung", welcher Ausdruck, so viel ich weiss, zum ersten Mal vorkommt in Ehrlich's Abrinarbeit aus dem Jahre 1891 (Deutsche medicinische Wochenschrift). Bei der grossen Autorität, welche Ehrlich in chemischen Gedankengängen für mich besitzt, übernahm ich zeitweise die Vorstellungsweise, welche mit dem Wort „Zerstören" verknüpft ist, für welche ja Analoga bei der Einwirkung von Proteïnkörpern auf einander genugsam bekannt sind, z. B. wenn Pepsinferment Albumosen zu Peptonen abbaut und so gewissermaassen zerstört. Meiner eigenen Betrachtungsweise lag aber Anfangs der 90er Jahre näher die Annahme einer Entgiftung nach dem Typus der Säureneutralisirung durch Alkali, und in diesem Sinne habe ich mich in meinem Buch „Infection und Desinfection. 1894. S. 240 ff." ausführlich geäussert.

Später wollten viele meiner Beobachtungen über die Inactivirung von Gift und Antitoxin sich diesem chemischen Neutralisirungstypus nur

schwer oder gar nicht einfügen. Dass auch die schönen Versuche von Martin und Cherry über Schlangengift und Antitoxin nicht geeignet sind, meine diesbezüglichen Bedenken zu beseitigen, habe ich in der oben citirten Diphtherie-Arbeit in v. Leyden's und Klemperer's „Deutsche Klinik" (S. 81) ausführlich begründet, und ich will daraus an dieser Stelle den wesentlichsten Inhalt recapituliren.

Martin und Cherry mischten antitoxisches Schlangenserum in solchem Verhältniss mit Schlangengift, dass im ersten Fall 1 Ccm. Serum zwei tödtliche Minimaldosen davon enthielt (Mischung I), im zweiten Fall drei (Mischung II), und im dritten Fall vier tödtliche Minimaldosen (Mischung III). Ausgehend von der im Jahre 1896 durch Martin (Journ. of Physiol. 1896, XX) gefundenen Thatsache, dass man in einer Lösung, die neben Stoffen mit sehr grossem Molecül solche mit kleinerem Molecül enthält, die ersteren von den letzteren trennen kann, indem man die Lösung unter hohem Druck durch eine Gelatinehaut filtrirt, wobei die Stoffe mit sehr grossem Molecül von der Gelatinehaut zurückgehalten werden; und gleichzeitig ausgehend von der Hypothese, dass das Antitoxinmolecül viel grösser ist als das Giftmolecül, rechneten die Verfasser darauf, dass sie das Schlangengift aus den Mischungen mit antitoxischem Serum durch eine solche Filtration wieder abscheiden würden, falls es ungebunden neben dem Antitoxin existirt, dass dagegen das Filtrat kein Gift enthalten würde, wenn das Schlangengift vom Antitoxin chemisch gebunden ist.

Martin und Cherry filtrirten nun die Mischungen I, II und III durch eine Gelatinehaut hindurch, nachdem diese Mischungen verschieden lange Zeit, 2, 5, 10, 15 und 30 Minuten, vom Zeitpunkt der Herstellung an gerechnet, bei 20—23° C. gestanden hatten, und sie sahen dann zu, welche Wirkung 1 Ccm. des Filtrats von jeder Mischung auf Meerschweine bei subcutaner Injection ausübte, nachdem sie vorher festgestellt hatten, dass die in 1 Ccm. der Mischung I enthaltene Giftmenge ohne Antitoxin Meerschweine nach 15 Stunden, die Giftmenge in 1 Ccm. der Mischung II nach 12 Stunden, die Giftmenge in 1 Ccm. der Mischung III nach 9 Stunden tödtete; und sie fanden bei dieser Versuchsanordnung, dass 1 Ccm. des Filtrats von allen drei Mischungen gänzlich unwirksam geworden war, wenn sie vor der Filtration 30 Minuten lang gestanden hatten; dass dagegen nach kürzerem Stehen der Mischungen vor der Filtration noch Gift in 1 Ccm. Filtrat enthalten war, und dass die Menge desselben umso grösser war, je weniger lange Zeit die Mischungen gestanden hatten, und je mehr Gift in der Mischung ursprünglich vorhanden war.

Die Versuchsergebnisse im Einzelnen lassen sich in übersichtlicher Weise erkennbar machen durch die Darstellung in der nachstehenden Tabelle:

Die Mischungen haben vor der Filtration bei 20—23 °C. gestanden	1 Ccm. Filtrat der Mischung		
	I wirkt auf Meerschweine	II wirkt auf Meerschweine	III wirkt auf Meerschweine
2 Minuten . . .	[illegible]	† nach 20 Stunden	† nach 13 Stunden
5 „ . . .	[illegible]	† „ 28 „	† „ 15
10 „ . . .	0	[illegible]	† „ 23 „
15 „ . . .	0	—	[illegible]
30 „ . . .	0	0	0
	Giftdosis in I ohne Antitoxin wirkt auf Meerschweine	Giftdosis in II ohne Antitoxin wirkt auf Meerschweine	Giftdosis in III ohne Antitoxin wirkt auf Meerschweine
	† nach 15 Stunden	† nach 12 Stunden	† nach 9 Stunden

Unter dem starken Eindruck dieser Versuche habe ich früher geglaubt, nothwendigerweise schliessen zu müssen, dass das Unschädlichwerden eines giftigen Proteïns durch das zugehörige Antitoxin einer Neutralisation im Sinne der Chemiker zuzuschreiben ist, bei welcher Gift und Antitoxin sich zu einem grösseren Molecül vereinigen, so dass aus zwei chemischen Individuen ein einziges wird. Martin und Cherry hatten Schlangengift mit dem zugehörigen Serumantitoxin in vitro zusammengemischt. Sie fanden danach, dass beim Filtriren der Mischung durch eine Gelatineschicht zwar noch nach 2 bis 15 Minuten, aber nicht mehr nach 30 Minuten, giftige Substanz hindurchgeht. Daraus zogen diese Autoren, und ich mit ihnen, den Schluss, dass die giftige und die antitoxische Substanz sich bei längerem Contact in der Mischung zu einem grösseren Molecül vereinigt hätten, welches die Gelatineschicht nicht zu durchdringen vermag. A priori kann diese Schlussfolgerung richtig sein; nothwendig aber ist sie nicht. Gesetzt den Fall, dass das antitoxische Eiweiss chemisch unverändert geblieben ist, und dass es blos seine antitoxische Energie verloren hat, und gesetzt den Fall, dass ebenso auch das giftige Protein, ohne eine chemische Verbindung mit Antitoxin einzugehen, blos die Giftigkeit verloren hat, im Uebrigen aber dasselbe Protein geblieben ist, welches es vorher war, so wird letzteres zwar nach wie vor die Gelatineschicht passiren, aber in ungiftiger Form. In dieser kann es durch den Thierversuch nicht nachgewiesen werden, wohl aber durch die chemische Analyse. Bis jetzt haben nun weder Martin und Cherry, noch sonst Jemand den Nachweis geliefert, dass das chemische Substrat für die Giftwirkung durch das Gelatinefilter nach der Entgiftung nicht mehr hindurchgeht, und von dieser Seite her sind keine zwingenden Argumente beigebracht worden zur Widerlegung der Hypothese, dass speciell bei der antitoxischen Unschädlichmachung des Schlangengiftes es sich um eine Antitoxin-Neutralisirung durch blossen Contact handeln könne, in dem Sinne, dass von Seiten des Blutantitoxins Energie abgegeben wird an die das Giftmolecül repräsentirenden Bestandtheile, durch welche Energieabgabe einerseits das Protein-Substrat der antitoxischen Wirkung inactiv, andererseits die giftige Substanz so trans-

formirt wird, dass ihre Giftigkeit verringert oder ganz aufgehoben wird. ohne dass das Antitoxinmolecül in ihren Bestand eingetreten ist.

Zum Zweck der experimentellen Prüfung vieler logischer Deduktionen, welche aus dieser Entladungshypothese abgeleitet werden können, musste ich zum Theil mit Giftlösungen arbeiten, die einen viel höheren directen Giftwerth haben als IIa.

Ich wählte dazu Tet. G. XIa. Da dieses neue Gift sich von IIa und allen meinen übrigen Tetanusgiften, welche von der im Eingang dieser Arbeit beschriebenen Cultur herstammen, sehr wesentlich unterscheidet, kann eine genauere Beschreibung seiner Eigenschaften nicht umgangen werden.

Tet. G. XIa stammt her von einer Cultur, welche Dr. Römer im Jahre 1902 von einem in der Marburger Chirurgischen Klinik sehr acut verlaufenen Tetanusfall gewonnen hat. Diese Cultur (Tetb. 2) unterscheidet sich von meiner alten Cultur (Tetb. 1) zunächst morphologisch insofern, als sie bei der üblichen Züchtung zum Zweck der Giftgewinnung in zuckerfreier Bouillon keine Neigung zur Ausbildung richtiger Dauersporen zeigt. Man sieht zwar im mikroskopischen Bilde — ähnlich wie beim Uebergang von Tetb. 1 zur Sporenbildung — auch in Tetb. 2 mit Kernfärbemitteln sich leicht und stark färbende Protoplasmabestandtheile innerhalb der schlauchförmigen Hülle nach einem Ende des Stäbchens hinwandern und dort, eingeschlossen von der kugelig aufgetriebenen Hüllsubstanz, zu einem runden Körper anschwellen, dessen Durchmesser fast ums Doppelte den des Stäbchens übertrifft. Dieser die Sporen-Anlage repräsentirende runde Körper verliert aber nicht, wie die fertigen Dauersporen, die grosse Aufnahmefähigkeit für Kernfarben; er bleibt einige Zeit im Zusammenhang mit einem ganz dünnen, fadenförmigen Protoplasmarest, der in der ganz schwach färbbaren Hülle gelegen ist. Später verschwindet die Hüllsubstanz vollständig; das Protoplasma bleibt dann hinterher noch tagelang in Kugelform sichtbar, zerfällt schliesslich aber, und man wird dann bloss noch durch diffus gefärbte Partikelchen an die frühere Existenz der Sporenanlagen erinnert. Während der Protoplasmawanderung zu einem Stäbchenende habe ich häufig das Auftreten von kleinen Bläschen innerhalb der sich entleerenden schlauchförmigen Hüllsubstanz gesehen, welche ich als Vacuolen ansprechen und mit der Giftproduction in Zusammenhang bringen möchte.

Ich habe den Eindruck bekommen, als ob das Auftreten grösserer Giftmengen geknüpft ist an das Verschwinden der Hüllsubstanz und das Freiwerden des ungefärbt bleibenden Inhalts der Schläuche, welchen hypothetischen Inhalt ich mit dem der vacuolenähnlichen Gebilde für gleichartig halten möchte.

Trennt man zu der Zeit, wo die anfänglich durchweg trübe aussehende Bouilloncultur sich in den oberen Schichten zu klären beginnt, den unteren getrübten Bouillonantheil von der klarwerdenden Schicht, so sieht man bei mikroskopischer Betrachtung in der getrübten Bouillon neben den Protoplasmaresten der Tetanusbacillen, kugeligen Sporenanlagen und leeren Schläuchen, noch viele intacte Tetanusbacillen, welche

sich noch ebenso mit Methylenblau färben, wie die Bacillen. Es finden sich darin aber auch alle Uebergangsstadien. Ich kam nun zu der Schlussfolgerung, dass die noch geschlossenen Schläuche Gift enthalten müssten, und dass in Folge dessen, wenn man durch Schütteln, Centrifugiren und durch andere Mittel in dem getrübten Bouillonantheil den giftigen Schlauchinhalt frei macht, im Filtrat dieses Antheils mehr Tetanusgift enthalten sein musste, als in dem dekantirten klaren Bouillon-Antheil. Diese Schlussfolgerung hat durch das Experiment volle Bestätigung erhalten; ich habe nämlich in vielen Fällen aus dem getrübten Bouillonantheil 3mal bis 5mal mehr Gift pro 1 Ccm. Filtrat erhalten, als in dem spontan geklärten Bouillonantheil. Von erheblichem Interesse scheint mir die Thatsache zu sein, dass in ähnlich angestellten vergleichenden Versuchen mit Diphtherie-Bouillonculturen es mir nicht gelungen ist, innerhalb der Bacillenleiber mehr Gift nachzuweisen, als in der umgebenden Flüssigkeit; ja es scheint mir sogar, als ob 1 Grm. Bacillensubstanz in Diphtheriebouillonculturen weniger Gift enthält als 1 Ccm. der klaren Flüssigkeit, aus welcher die Bacillensubstanz gewonnen wurde.

Dass nicht die mit Kernfarben sich stark färbenden Protoplasmatheile der Tetanusbacillen mit der giftigen Substanz identisch sein können, schliesse ich aus Versuchen, welche ich angestellt habe, um den Einfluss verschiedener Nährstoffe auf die Tetanusgift-Production zu studiren. Es giebt darunter mehrere, z. B. Traubenzucker und Glycerin, welche in ganz hervorragendem Maasse befähigt sind, die Vermehrung der Tetb.-Protoplasten zu befördern; anstatt einer starken Giftwirkung solcher sehr reichlich gewachsener Bouillonculturen zeigt sich jedoch bei ihrer Untersuchung ein fast vollkommenes Fehlen von gelöster giftiger Substanz, und auch aus den abcentrifugirten Bacillenmassen sind durch die bekannten Zertrümmerungsmittel nennenswerthe Giftquantitäten nicht zu gewinnen. Dagegen ist die Infectiosität der beispielsweise aus Zuckerculturen herstammenden Bacillen und Sporen — denn in Zuckerbouillon bilden auch die Tetb. 2 typische Dauersporen — nicht verloren gegangen, und in zuckerfreier Bouillon produciren solche giftfreien Tetanuskeime das lösliche Gift wieder in unveränderter Stärke. Diese Beobachtung und eine Reihe von anderen Thatsachen haben mich zu der Meinung gebracht, dass die Tetanusbacillen dann am meisten Gift produciren, wenn sie gezwungen werden, ihren Bedarf an Kohlehydraten aus Protein-Molecülen zu decken, nachdem sie diese mit Hilfe einer protoplasmatischen Diastase gespalten haben.

Ganz analoge Beobachtungen kann man auch an den Diphtheriebacillen machen; auch diese produciren in zuckerhaltigen Nährlösungen wenig oder gar kein Gift. Die Thatsache, dass sowohl die Tetanusbacillen wie die Diphtheriebacillen auch eine Peptonbouillon ohne willkürlichen Zuckerzusatz in den ersten Tagen des reichlichen Wachsthums nur wenig giftig machen, bringe ich in Zusammenhang mit assimilirbaren freien Kohlehydraten, welche aus dem zur Bouillonzubereitung benutzten Fleisch in die Nährflüssigkeit übergehen; ich nehme an, dass erst nach dem Verbrauch dieser Kohlehydrate die energische Inanspruchnahme von Proteinen zur Deckung des Kohlehydratbedarfs und damit die Giftproduction beginnt.

Zur Erklärung des verschiedenen Verhaltens der Tetanusbacillen und

Diphtheriebacillen, insofern als jene in einer Volum-Einheit ihrer Leiber mehr Gift enthalten als die gleiche Volum-Einheit von der sie umgebenden Flüssigkeit, diese aber weniger, nehme ich die Hypothese zu Hilfe, dass die proteinspaltende und dadurch giftproducirende Diastase bei den Tetanusbacillen innerhalb der den Protoplasten umgebenden, schwer durchgängigen Hülle arbeitet, während sie bei den Diphtheriebacillen durch eine viel leichter durchgängige Hüllsubstanz von der Nährflüssigkeit getrennt ist; ferner scheinen mir die Diphtheriebacillen kein Organ zur intracellulären Aufspeicherung ihres toxischen Arbeitsproductes zu besitzen.

Die Begünstigung der Giftproduction in Tetanus-Bouillonculturen (Tetb. 2 B. K.) durch manche andere Bakterien führe ich auf die Vorwegnahme der aus dem Fleisch stammenden Kohlehydrate in der Nährflüssigkeit durch die fremden Bakterien zurück.

Mein Tet. G. XIa ist nun ein unter Toluol aufbewahrtes Filtrat von einer Tetb. 2-Reincultur in Fleischwasser-Pepton-Bouillon (Fl.P.B.K.). Die dieses Gift liefernde Cultur war vom 14. bis 24. Mai 1903 bei 37° gewachsen und liess in dem Bodensatz der im Uebrigen ganz klar gewordenen Nährflüssigkeit fast gar keine intacten Bacillen, wenige Köpfchen tragende Schläuche, ziemlich viel Protoplasmakugeln und sehr viel zerfallene Protoplasmamassen erkennen.

Das am $^{24}/_{V}$ 03 gewonnene Filtrat = Tet. G. XIa enthielt in 1 Ccm. bei einem Gehalt von 2,000.000 + ms ca. 2,000.000 + Ms, 10,000.000 + M und **2,000.000 + K**.

Durch den bei der Vergleichung dieser Zahlen mit dem Prüfungsergebniss an frischen Tetb 1-Culturfiltraten (2,000.000 + ms, 2,000.000 + Ms, 10,000.000 + M und **16.000** + K pro 1 Ccm.) zu Tage tretenden auffallend hohen + K-Werth erweist sich mein Tet. G. XIa als dieselbe Giftmodification, welche ich an einem von Tizzoni erhaltenen Trocken-Tetanusgift im 2. Heft meiner „Beiträge“, S. 1088 ff. genau beschrieben habe, und diesen relativ hohen + K Werth zeigen ausnahmslos alle Culturfiltrate von Tetb 2.

Wer, wie Tizzoni es früher that, den Giftwerth von Tetanusgiftlösungen unter Zugrundelegung ihrer im Kaninchenversuch festzustellenden krankmachenden Wirkung einschätzt, der muss nothwendig zu der Schlussfolgerung gelangen, dass XIa ein sehr viel stärkeres Tetanusgift ist als IIa. Tet. G. XIa war im frischen, nicht abgeschwächten Zustande 125mal mehr giftig für Kaninchen als die das Tet. G. IIa zusammensetzenden frischen Culturfiltrate von Tetb 1 mit einem indirecten Giftwerth von 2,000.000 + ms und mit einem directen Giftwerth von 16.000 + K pro Ccm. Wer dagegen das Ergebniss der directen Giftprüfungen an Mäusen und Meerschweinen der Giftwerthbeurtheilung zu Grunde legt, der wird die frischen Culturfiltrate von Tetb 1 und 2, wenn sie den gleichen indirecten Giftwerth haben, auch in Bezug auf den directen Giftwerth für gleichwerthig erklären müssen.

Mir kam es bei meinen vergleichenden Studien hauptsächlich auf ein Urtheil darüber an, ob ich von dem Culturstamm Tetb 2 solche

Gifte erhalten könnte, die zur Antitoxinerzeugung im Pferdekörper sich besser eignen als meine Tetb 1-Gifte. Von diesem Gesichtspunkt aus betrachtet ist XIa ungünstiger zu beurtheilen als IIa. Ich halte es für sehr wahrscheinlich, dass XIa, wenn es so hochgradig abgeschwächt sein wird wie IIa, zu Antitoxingewinnungszwecken ebenso brauchbar werden wird wie dieses; vorläufig aber hat es sich mir für die Erzeugung der Grundimmunität als ganz ungeeignet erwiesen, und bei schon hoch immunisirten Pferden leistet es für die Steigerung des Blutantitoxin-Gehaltes eher etwas weniger als nach meinen Erfahrungen von seinem indirecten Giftwerth erwartet werden sollte. Es treffen hier alle die Beobachtungen zu, welche ich in meinen „Beiträgen" im 1. Heft, S. 1061 bis 1067 genau mitgetheilt habe.

Bei meinen Pferdeversuchen habe ich übrigens die theoretisch sehr bedeutungsvolle Beobachtung gemacht, dass (an Stelle der noch nicht Leben und Gesundheit bedrohenden exsudaterzeugenden Wirkung von IIa) durch XIa bei tetanusimmunisirten Pferden ein streng localisirter Tetanus derjenigen Muskelpartien sich einstellt, welche an der Giftinjectionsstelle gelegen sind. Ich schliesse daraus, dass vom subcutanen Gewebe aus, bei hämatogener Giftsperre nach den nervösen Centralorganen hin, das stark abgeschwächte Tet. G. IIa zwar zu den sympathischen Ganglienzellen gelangen und deren Function alteriren kann, wenig oder gar nicht aber zu den motorischen Ganglienzellen des Rückenmarks gelangt, während das nicht abgeschwächte Tet. G. XIa von den intramuskulären Nervenendigungen leichter als IIa resorbirt und zu den motorischen Ganglienzellen fortgeführt wird. Bei dem tetanusimmunisirten Pferde Bertha, bei welchem ich durch XIa localisirten Tetanus bekommen habe, war nach einer subcutanen Giftinjection an der linken Halsseite besonders der M. sternocleidomastoideus vollkommen tetanisch geworden, ohne dass unter der Haut mehr als eine schnell vorübergehende geringe Exsudation von Flüssigkeit festgestellt worden konnte. Dass aber sympathische Ganglienzellen nicht ganz unbetheiligt geblieben sind, möchte ich deswegen annehmen, weil die Fiebercurve und die Gewichtsverhältnisse (cfr. nebenstehende Tabelle) genau dasselbe Bild darboten, welches man bei Pferden auch ohne jede Alteration von motorischen Rückenmarkscentren bekommt.

Wie auch in späterer Zeit die Frage nach dem Wirkungsbereich des Tetanusgiftes im Organismus giftempfindlicher animalischer Individuen entschieden werden möge, darüber glaube ich jetzt schon genügend unterrichtet zu sein, um sagen zu können, dass zwar zweifellos Ganglienzellen des centralen Nervensystems directe Angriffspunkte für das Gift repräsentiren, dass aber andererseits auch peripherisch gelegene Zellen der Tetanusgiftwirkung unterliegen, und ich habe eine grosse Reihe von Anhaltspunkten für die Annahme, dass besonders Zellelemente, welche dem vasomotorischen Apparat angehören, morphologische und functionelle Alterationen erleiden, wenn sie unter dem Einfluss des Tetanusgiftes entstehen. Speciell bei ausgewachsenen Kaninchen scheinen cellu-

Pfrunt Bertha No 23 4
4jährig

1903. Juni

Temp.
42,0 9 8 7 6 5 4 3 2 1
41,0 9 8 7 6 5 4 3 2 1
40,0 9 8 7 6 5 4 3 2 1
39,0 9 8 7 6 5 4 3 2 1
38,0 9 8 7 6 5 4 3 2 1
37,0

4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19

Medication:

Gewicht: 42000 42000 41200 41800

Bemerkungen:

läre Angriffspunkte in hervorragendem Masse sich vorzufinden in den Wandungen der kleinsten Gefässe, womit ich die Existenz einer auf das Tetanusgift specifisch einwirkenden Diastase in der aus zerkleinerten Kaninchenlungen zu gewinnenden Extractionsflüssigkeit in Zusammenhang bringe. Im ersten Heft dieser „Beiträge" habe ich dieser Diastase den Namen „Tetanotoxinase" gegeben und ihre Eigenschaften auf S. 1075 bis S. 1088 genau beschrieben.

Der Gedanke lag nahe, den Versuch einer directen Sichtbarmachung der hypothetischen cellulären Alterationen in den Gefässwandungen mit Hülfe von electiven Färbemethoden zu unternehmen. Ich habe mich in Gemeinschaft mit Dr. Much dieser Aufgabe unterzogen, wobei wir zunächst ähnlich vorgehen, wie wir das für die cellulären Angriffspunkte der Milzbrandbacillen im Organismus der Mäuse und Meerschweine in einer Arbeit beschrieben haben, welche in der Neujahrsnummer 1904 der Deutschen medicinischen Wochenschrift erscheinen wird; und wir hoffen auf diesem Wege in einwandsfreier Weise einerseits die Existenz von autonomen biologischen Einheiten innerhalb von tetanusgiftempfindlichen Zellen und andererseits die Existenz einer Substanz demonstriren zu können, welcher in meiner Formel:

$$> \underset{-}{A} \underset{C\;+}{-\;t} < \;=\; \left(\underset{-}{A} \underset{+}{- - t} \right) C \;=\; (A\,t)\,C$$

die Rolle des Conductors „C" zufällt.

Es kann aber noch sehr lange dauern, ehe wir für den Tetanusin einer abgeschlossenen Arbeit unsere diesbezüglichen Versuchsergebnisse mittheilen werden. Inzwischen möchte ich einige für unsere eigenen Experimente mir wichtig erscheinende Gesichtspunkte, betreffend den mikroskopischen Nachweis von specifischen Beziehungen zwischen einem Infectionsstoff und animalischen Zellindividuen, festlegen an der Hand eines kritischen Referats über ähnliche Untersuchungen von Goldscheider und Flatau aus dem Jahre 1897 (Fortschritte der Medicin No. 16).

In ihrer Arbeit „Weitere Beiträge zur Pathologie der Nervenzellen" gehen Goldscheider und Flatau von der wohl zuerst von Goldscheider concipirten Voraussetzung aus, dass „Neurone" vom Tetanusgift vergiftet werden.

An nicht weniger als 103 Kaninchen studirten die Verfasser aufs sorgfältigste die symptomatologischen und morphologischen Folgeerscheinungen der intravenösen Tetanusgift-Einverleibung, wobei sie in sehr lehrreicher Weise die Versuchsbedingungen variirt haben, zumal was die Dosirung des Giftes, die Concentration der Giftlösungen, die Beeinflussung der Vergiftungserscheinungen durch Antitoxinbehandlung, die Untersuchung der Thiere in verschiedenen Vergiftungsstadien und Aehnliches angeht.

Mikroskopisch nachweisbare Veränderungen im Gefolge der Vergiftung scheinen Goldscheider und Flatau nur an den motorischen Ganglienzellen des centralen Nervensystems, speciell verschiedener Abschnitte des Rückenmarks, studirt zu haben.

Das Gesammtergebniss ihrer experimentellen Untersuchungen fassen Goldscheider und Flatau in den nachfolgend wörtlich citirten Sätzen zusammen:

„1. Das Tetanusgift erzeugt bei Kaninchen charakteristische nutriti
Veränderungen der motorischen Nervenzellen der Vorderhörner, welch
mittelst der Nissl'schen Färbung zu erkennen sind.

2. Dieselben bestehen in Vergrösserung des Kernkörperchens mi
Ablassung desselben, Vergrösserung der Nissl'schen Zellkörperchen un
Abbröckelung derselben, feinkörnigen Zerfall der Nissl'schen Zellkörper-
chen und Vergrösserung der Zellen.

3. Was die Reihenfolge dieser Alterationen betrifft, so tritt zuer
Kernkörperchenschwellung auf; während dieselbe zunimmt, entwickelt si
alsbald Nissl'sche Zellkörperchenschwellung. Beide Veränderungen könn
sehr hohe Grade erreichen. Die Abbröckelung der Nissl'schen Ze
körperchen beginnt entweder erst, nachdem dieselbe schon einen gewiss
Grad der Schwellung erreicht haben, oder setzt bereits beim Beginn d
Schwellung ein. Es kommen in dieser Hinsicht Verschiedenheiten v
so kann die Abbröckelung auftreten und bei weitergehender Schwellu
wieder verschwinden, um dann event. wiederzukehren. Weiterhin nimm
die Abbröckelung zu und es treten feinere Körnchen auf, so dass schlies
lich die Nissl'schen Zellkörperchen in feinkörnigem Zerfall sich vorfind
Zu dieser Zeit pflegt die Kernkörperchenschwellung sich zurückzubild
wobei das Kernkörperchen oft eckige Form annimmt; zuweilen ist d
gesammte Zelle in dieser Phase etwas vergrössert.

Wir betrachten dieses Stadium als Uebergang zur Norm, da s
gewöhnlich schon eine Anzahl von normalen oder annähernd norma
Zellen vorfindet.

Wenn auch die Zellen beim feinkörnigen Zerfall sehr verändert a
sehen und die Nissl'sche Zellkörperchenbildung nicht erkennen lass
so stellt dieser Zustand doch eine viel geringere Alteration dar als d
Schwellung der Nissl'schen Zellkörperchen. Wir glauben, dass
Cohäsion der chromatophilen Massen, von welcher doch schliesslich
Zusammenballung zu den Nissl'chen Zellkörperchen abhängt, ohne e
hebliche Bedeutung für das Zellenleben Schwankungen aufweisen ka

Der feinkörnige Zerfall ist nicht immer ausgesprochen, er fehlt hau
sächlich bei Anwendung schwacher Giftlösungen bezw. bei wirksam
Antitoxin-Injection mit retardirender Wirkung, findet sich dagegen b
concentrirten Giftlösungen.

4. Die Reihe dieser morphologischen Veränderungen ist in ihre
zeitlichen Verlauf abhängig von der Concentration der Giftlösung un
der absoluten Menge des Giftes. Bei concentrirten Lösungen verlauf
die Veränderungen schnell, so dass man nach weniger als einem Ta
schon die Kernkörperchenschwellung und Nissl'sche Zellkörperchen
schwellung abgelaufen findet. Dagegen bei schwächeren Lösungen en
wickeln sich die Kernkörperchen- und Nissl'sche Zellkörperchenschwellun
und Abbröckelung langsamer und halten sich längere Zeit auf derselb
Höhe, so dass man bei sehr verdünnten Lösungen durch mehrere Ta
hindurch ein Constantbleiben dieser Alterationen feststellen kann.

Schliesslich gehen auch bei schwachen Lösungen die Veränderun
nach mehr oder weniger langer Zeit zurück (sie konnten 2—3 Woch
lang beobachtet werden), wobei sehr gewöhnlich der feinkörnige Zer
vermisst wird. Die Nissl'schen Zellkörperchen gewinnen ihr norma

Aussehen früher als das Kernkörperchen, welches mit auffälliger Hartnäckigkeit den geschwollenen Zustand beibehält.

5. Der Einfluss der Concentration der Giftlösung zeigt sich darin, dass auch bei gleicher absoluter Menge des einverleibten Giftes die concentrirtere Lösung eine deutlich stärkere Wirkung entfaltet.

6. Die Nervenzellen reagiren nicht ganz gleichmässig auf das Gift, vielmehr sieht man oft an dicht neben einander gelegenen Exemplaren differente Stadien der Alteration. Namentlich tritt dies beim Rückgang der Veränderungen hervor. Auch individuelle Unterschiede der Thiere spielen eine Rolle.

7. Um eine Anschauung davon zu geben, wie weit der Beginn der Alteration durch die Verdünnung der Giftlösung hinausgeschoben werden kann, erwähnen wir, dass bei 4—5 proc. Lösung schon nach 1—2 Stunden Alterationen merklich sind, während bei Lösung 1 : 1000 dieselben sich erst nach 23 Stunden in der ersten Entwicklung präsentiren.

8. Wir betrachten diese morphologischen Alterationen als charakteristisch für die Tetanusvergiftung, da sie constant und ausnahmslos von uns gefunden wurden, während wir bei andersartigen Einwirkungen (Malonnitril und Erwärmung, Flatau und Marinesco bei Amputation) und auch andere Autoren bei ihren verschiedenartigen Untersuchungen niemals derartige Vorgänge gesehen haben.

9. Welche Beziehungen lassen sich nun aus unseren Untersuchungen zwischen den Vergiftungssymptomen und den morphologischen Veränderungen der Nervenzellen ableiten?

Eine gewisse Aehnlichkeit in dem Verlaufe beider finden wir in dem Umstande, dass bei concentrirten Lösungen sowohl die Symptome wie die morphologischen Veränderungen sich schnell entwickeln, während bei dünneren Lösungen Beides langsamer geschieht und sich längere Zeit auf einer gewissen Höhe hält.

Allein nun stossen wir sofort auf gründliche Differenzen: Erstlich nämlich steigern sich bei concentrirten Lösungen die Symptome mehr und mehr, bis zum Tode, während unsere morphologischen Veränderungen, nachdem sie auf der Höhe angelangt sind, wieder eine Tendenz zur Rückbildung zeigen. Auch bei dünnen Lösungen tritt schliesslich eine Divergenz ein, indem die klinischen Symptome sich weiter steigern können, während die morphologischen Veränderungen Halt machen und sich zurückbilden.

Zweitens finden wir bei gleichen morphologischen Bildern differente Phasen der Vergiftungserscheinungen und umgekehrt bei gleichen Vergiftungssymptomen differente morphologische Zustände.

Somit beschränkt sich die Gemeinschaftlichkeit der Vergiftungssymptome und der nutritiven Veränderungen auf die ganz grobe Beziehung, dass starke Gifte nach beiden Richtungen hin intensive, schwache Gifte schwache Erscheinungen zu Wege bringen. Bei näherer Analyse aber ergiebt sich eine vollkommene Incongruenz, insofern als eine regelmässige Beziehung zwischen den Vergiftungssymptomen einerseits und den histologischen Veränderungen andererseits nicht besteht.

10. Zu eben diesem Schluss waren wir auch bei Malonnitril und Erwärmung, im gewissen Sinne auch bei Strychnin gekommen. Wir

nehmen daher Gelegenheit, noch einmal darauf hinzuweisen, dass be
der Interpretation von Zellveränderungen auf Grund Nissl'scher Method
mit Bezug auf die Symptome Vorsicht zu üben ist. Das gilt namentl
auch für die pathologisch-anatomischen Betrachtungen.

11. Das Antitoxin entfaltet eine deutliche Einwirkung auf die durch
das Toxin verursachten morphologischen Veränderungen der Zelle und
zwar so, dass dieselben in ihrer Entwicklung und ihrem Ablauf retar-
dirt werden; unter Umständen bei sehr frühzeitiger Injection und gross
Dosis so, dass eine schnellere Rückbildung eintritt.

Die retardirende Wirkung war vorwiegend bei den dünnen Lösungen
und bei den starken, falls einige Zeit vergangen war. Sie zeigte sich
bei den verdünnten Lösungen sowohl bei vorheriger wie gleichzeitiger w
späterer Einspritzung des Antitoxins. Dass hier keine beschle-
nigende Wirkung auftrat, muss auf die zu grossen Zwischenzeiten un
die geringen Dosen zurückgeführt werden.

12. Diese Beziehungen sprechen dafür, dass das Antitoxin nur in
direct auf die Nervenzelle einwirkt, indem es das Toxin neutralisirt
bezw. einen Theil des an die Nervenzellen gebundenen Toxins aus den
selben herauslöst. Denn die Erscheinungen verlaufen so, wie sie ve
laufen müssen, wenn das eingeführte Toxin plötzlich um ein gewiss
Quantum vermindert bezw. vollkommen aufgehoben wird.

13) Was die Frage nach dem Wesen der morphologischen Ve
änderung betrifft, so lässt sich dieselbe zur Zeit noch nicht bestim
beantworten. Da die beschriebenen Structur-Veränderungen der Nerv
zellen keine Congruenz zu den Vergiftungssymptomen zeigen, so kan
man nicht annehmen, dass jene von der im Körper vor sich gehend
Antitoxinbildung abhängig sind. Hierfür spricht auch, dass wir
Strychnin die gleichen Alterationen vorfinden, obwohl d
Organismus zu Strychnin keine Antikörper bildet. We
trotzdem die künstliche Einführung von Antitoxin auf d
morphologischen Alterationen der Zellen einwirkt, so ka
dies eben, wie auch aus dieser Betrachtung wiederum fol
keine directe, sondern nur eine indirecte Wirkung sein, d
eine Wirkung durch Verminderung der Toxine.

Die morphologische Alteration der Nervenzellen, wie s
sich in der Schwellung der Kernkörperchen und der Nissl'sch
Zellkörperchen zeigt, ist sicherlich der Ausdruck eines ch
mischen Processes, und dieser kann nicht wohl etwas ander
sein, als die chemische Bindung des Toxins an die Nerve
zellen. Die Ursache dieser Bindung ist offenbar darin gelegen, d
in der Substanz der Nervenzellen Atomgruppen vorhanden sind, wel
eine Affinität zu gewissen Atomgruppen des Tetanusgiftes haben. B
Strychnin müssen wir dasselbe annehmen, und da bei beiden Gif
die gleiche morphologische Veränderung eintritt, so müssen
annehmen, dass diese Alteration mit einer chemischen Action bestimm
Atomgruppen zusammenhängt. Ob es rein zufällig oder von wesentlic
Bedeutung ist, dass bei eben diesen Veränderungen chemischer
morphologischer Art nun auch eine Hyperexcitabilität der Zel
eintritt, steht dahin.

Eine weitere Folgerung unserer Anschauung ist, dass

chemische Process der Toxinbindung so lange fortdauert, bis der in den Zellen vorhandene Vorrath an Affinitäten gesättigt ist. Sobald dies der Fall ist, kommt das Restitutionsbestreben der Zelle zum Durchbruch. Die vollständige Rückbildung bedarf dann noch einiger Zeit, besonders diejenige der Kernkörperchen-Schwellung. Wird viel Toxin acut einverleibt, so werden die Affinitäten schnell gesättigt, und es kommt demgemäss zeitig zur Restitution. Kommt dagegen wenig Toxin in den Organismus, so erfolgt die Sättigung der Affinitäten langsam, der chemische Process der Toxinbildung dauert lange fort, und so wird das Restitutionsbestreben der Nervenzellen lange Zeit gehemmt; wahrscheinlich kann es schliesslich, bei sehr allmählicher Einwirkung, auch ehe alle Affinitäten gesättigt sind, die Oberhand gewinnen.

Vernichtet das künstlich eingeführte Antitoxin den gesammten noch bindungsfähigen Toxin-Vorrath im Körper, so wird sich die Nervenzelle alsbald restituiren, in diesem Falle tritt also eine Beschleunigung der Rückbildung ein. Neutralisirt das Antitoxin aber nur einen Theil des Toxins, so geht der Process der chemischen Toxinbindung in den Zellen nur mit verminderter Kraft weiter; es tritt Retardirung der morphologischen Alteration ein.

Wir verkennen nicht, dass auch dieser Erklärungsversuch noch Manches dunkel lässt; wir werden eben immer wieder zu der Vorstellung gedrängt, dass sich noch anderweitige wichtige Vorgänge in der Zelle abspielen, welche unserer Erkenntniss noch nicht zugänglich sind."

Ich bin mit G. und F. der Meinung, dass im experimentellen Theil ihrer Arbeit ein causaler Zusammenhang zwischen Tetanusgiftwirkung und den beobachteten Alterationen morphologischer Art innerhalb von motorischen Ganglienzellen bewiesen worden ist; dafür spricht die zeitliche Aufeinanderfolge von Gifteinverleibung und Zellenveränderung, die Abhängigkeit der Zellenveränderung im Einzelnen und ihr zeitlicher Ablauf von der Dosirung, die Regelmäsigkeit der beobachteten Erscheinungen und namentlich ihre willkürliche Beeinflussung durch die Antitoxinbehandlung der vergifteten Thiere. Ein pathognomonischer Werth kommt dagegen den mikroskopisch sichtbar gemachten morphologischen Alterationen innerhalb der motorischen Ganglienzellen nicht zu, wenigstens nicht in dem Sinne, dass ein sachverständiger Beobachter auf Grund der Ganglienzellenuntersuchung eine voraufgegangene Tetanusvergiftung diagnosticiren oder ausschliessen könnte.

Von Einzelheiten möchte ich Folgendes beanstanden:

Sub 6 wird auf individuelle Unterschiede im Verhalten der Kaninchen hingewiesen. Ich vermuthe, dass nicht individuelle, sondern generelle, d. h. gesetzmässige, Unterschiede sich gefunden hätten, wenn auf das Alter der Kaninchen Rücksicht genommen wäre. Junge Kaninchen findet man bis 4 mal stärker tetanusgiftempfindlich, wie alte Kaninchen, so dass man zur Erreichung des gleichen Vergiftungseffektes alten Thieren pro 1 Grm. Körpergewicht, je nach dem Altersunterschied, 2- bis 4 mal mehr Gift geben muss wie jungen Thieren.

In eigenen Versuchen bin ich ferner noch auf eine andere häufig vorkommende Fehlerquelle aufmerksam geworden.

Bei intravenösen Injectionen, zumal wenn sie durch die Haut hin-

durch in eine Ohrvene vorgenommen werden, gelangt leicht ein Th[illegible]
des Giftes in das subcutane Gewebe. Nun sind bemerkenswerther We[illegible]
Kaninchen gegenüber der gleichen Giftdosis viel weniger empfindli[illegible]
wenn diese in das Blut eingespritzt wird, als wenn sie unter die Ha[illegible]
gelangt. Wird dieser Thatsache nicht genügend Rechnung getrag[illegible]
dann werden die beobachteten Unterschiede in der Giftwirkung einer in[illegible]
viduellen Disposition oder einer Idiosynkrasie zur Last gelegt, währe[illegible]
in Wirklichkeit zu der Annahme eines individuell verschiedenen Empfind-
lichkeitsgrades keine Veranlassung vorliegt.

Speciell beim Tetanusgift habe ich mich so sehr daran gewöh[illegible]
den angeborenen Empfindlichkeitsgrad bei Thieren derselben Art v[illegible]
kommen gleich zu finden, wenn Alter, Gewicht, derzeitiger Ernährung[illegible]
zustand u. A. sorgfältig berücksichtigt werden, dass ich bei dem th[illegible]
sächlichen Vorkommen einer Abweichung vom generellen Empfindl[illegible]
keitsgrade immer nach einem ausreichenden Grunde forsche; und [illegible]
selten komme ich in die Lage, auf den Nachweis eines concreten M[illegible]
ments für das vom Arttypus abweichende Verhalten verzichten [illegible]
müssen. Eine individuell abweichende celluläre Giftempfindlichk[illegible]
habe ich bis jetzt nur bei solchen Thieren einwandsfrei nachweis[illegible]
können, welche vorher schon unter dem Einfluss des Tetanusinfection[illegible]
stoffes oder seines Antikörpers gestanden haben.

Auch den oben erwähnten individuellen Unterschied in der G[illegible]
empfindlichkeit junger und alter Kaninchen habe ich auf einen gr[illegible]
baren Factor zurückgeführt; junge Kaninchen besitzen nämlich n[illegible]
bloss absolut, sondern auch relativ weniger Tetanotoxinase, we[illegible]
letztere das Tetanusgift schon peripherisch angreift, für das Cent[illegible]
nervensystem weniger wirksam macht und damit den Vergiftungseff[illegible]
abschwächt.

Mit dem Tetanotoxinasegehalt der Gefässwandungen bringe ich a[illegible]
die sehr auffallende Thatsache in einen Causalnexus, dass insbesond[illegible]
ältere Kaninchen vom Blute aus viel weniger der mit dem Tode en[illegible]
genden Tetanusvergiftung ausgesetzt sind, wie vom subcutanen G[illegible]
webe aus.

Die sub 8 als „charakteristisch" geschilderten morphologisch[illegible]
Ganglienzellenveränderungen im Gefolge einer Tetanusvergiftung fin[illegible]
sich nach den eigenen Angaben der Verfasser auch bei der Strychni[illegible]
vergiftung, und ich habe experimentelle Anhaltspunkte dafür, dass j[illegible]
Zellveränderungen auch sonst noch beobachtet werden können, wo we[illegible]
eine Behandlung mit Tetanusgift noch mit Strychnin voraufgegangen [illegible]

Wenn sub 11, 12 und 13 die Verfasser aus ihren Versuchen de[illegible]
ciren,

erstens, dass zu der Zeit, wo die ersten morphologischen V[illegible]
änderungen in den motorischen Ganglienzellen sichtbar werden, [illegible]
Tetanusgift in die Zelle eingedrungen ist,

zweitens, dass die Kernkörperchen- und Nissl-Körperch[illegible]
Schwellung sicherlich der Ausdruck eines chemischen P[illegible]
cesses, und zwar einer chemischen Bindung des Toxins [illegible]
die Nervenzellen ist,

drittens, dass die Beeinflussung der die Nervenzellenalterat[illegible]
bedingenden Vergiftung durch das hinterher eingespritzte Antitoxin [illegible]

intracellulären antitoxischen Neutralisation des an die Nervenzellen gebundenen Toxins zugeschrieben werden müsse, so sind das Schlussfolgerungen, welche nicht nothwendiger Weise aus den experimentellen Daten abgeleitet werden müssten, und welche mit anderweitig festgestellten Thatsachen nicht in Einklang zu bringen sind.

Es existiren viele und sehr sorgfältige Untersuchungen über die Schnelligkeit, mit welcher nach intravenöser Einspritzung von Tetanusgift der Gifttransport durch die Axencylindersubstanz bis zu dem Rückenmark vor sich geht, und alle Forscher, welche sich mit dieser Frage experimentell beschäftigt haben — insbesondere H. Meyer und Ransom; Marie und Morax — sind darüber einig, dass 1—2 Stunden nach der intravenösen Giftinjection im Rückenmark noch keine Gifttheile nachweisbar sind. In dem experimentellen Theil der Arbeit von G. und F. findet sich eben so wenig ein experimenteller Beweis für eine so schnelle Giftstoffwanderung in intraneuralen Bahnen.

Rein speculativ ist auch die sub 13 angegebene Deduction betreffend die Zurückführung der morphologischen Veränderungen am Kern und an den Nissl-Körperchen auf eine chemische Bindung des Tetanusgiftes.

Die Annahme einer intracellulären Neutralisirung des Toxins durch Antitoxin würde selbst dann unmöglich zutreffen können, wenn wider Erwarten durch erneuerte und veränderte Untersuchungen bewiesen werden könnte, dass die von G. und F. beschriebenen Nervenzellen-Alterationen von einer vorherigen Giftstoffeinwanderung abhängig und durch Toxinbindung bedingt sind. Ist doch durch die fundamentellen Feststellungen H. Meyer's, die ich experimentell bestätigen konnte, gezeigt worden, dass Tetanusantitoxin überhaupt nicht in die Ganglienzellen des Rückenmarks vom Blutwege aus befördert werden kann.

Wenn G. und F. sub 12 die Schlussfolgerung machen, dass „das Antitoxin nur indirect auf die Nervenzelle einwirkt", direct dagegen nur auf das Toxin, so entspricht das durchaus meiner von jeher kundgegebenen Auffassung der Sachlage. Auch den Satz: „Denn die Erscheinungen verlaufen so, wie sie verlaufen müssen, wenn das eingeführte Toxin plötzlich um ein gewisses Quantum vermindert wird", kann ich verbotenus unterschreiben. Die Verminderung des Toxins durch nachfolgende Antitoxinbehandlung erfolgt aber nicht intracellulär, sondern extracellulär, also humoral, in der intravasculär kreisenden Flüssigkeit und allenfalls noch in den extracellulären Gewebsflüssigkeiten.

Sub 13 sprechen die Verfasser von dem Eintritt einer „Hyperexcitabilität" der Zellen, als Folge der tetanischen Vergiftung. Mit der Frage der cellulären Ueberempfindlichkeit habe ich mich sehr viel beschäftigt: danach scheint es mir ausgeschlossen zu sein, dass eine solche schon so kurze Zeit nach einer Tetanusgiftzufuhr eintreten kann, wie das in den Versuchen von G. und F. der Fall sein soll. Thatsächlich kann aus den mitgetheilten Befunden wohl auch bloss auf eine Hyperexcitation, auf eine gesteigerte Erregung, der biologischen Functionen in den motorischen Ganglienzellen, geschlossen werden. Eine gesteigerte celluläre Erregbarkeit dürfte auf mikroskopischem Wege schwer festzustellen sein.

Da ich eine intracelluläre antitoxische Entgiftung solcher Zellen, i
welche Tetanusgift eingedrungen ist, in den Versuchen von G. und F.
ausschliessen muss, so kommen für mich auch die Erklärungsversu h
für eine beschleunigte Rückbildung (in den Schlusssätzen sub 13) in We-
fall. Ferner ist nach meinen Kenntnissen von dem Ablauf tetanischer
Vergiftungsprocesse die Vorstellung a priori nicht annehmbar, dass ei
Ganglienzelle, die in ihrem Innern Tetanusgift enthält, innerhalb der v
G. und F. angegebenen kurzen Zeiträume eine restitutio ad integr
erfahren könnte.

So möchte ich denn hier meine Vermuthung zur Discussion stell:
dass die Befunde, welche G. und F. als Ausdruck für eine Rückbildu.
im Sinne einer restitutio ad integrum interpretiren, vielmehr der A-
druck für eine Nekrobiose sein könnten.

Unter der Voraussetzung der Richtigkeit dieser Vermuthung mache i
mir nun folgende Vorstellung von der im Gefolge einer Tetanusvergift.
der Kaninchen durch G. und F. beobachteten intracellulären Veränderung

Ich fasse die Kern- und Nissl-Körperchen-Schwellung als vit
Functionen auf, die sich womöglich noch innerhalb der normal-phys-
logischen Grenzen bewegen, und die in der That auf eine Reizwirk .
des Tetanusgiftes zurückzuführen sind; aber nicht auf eine Re-
wirkung durch die chemische Einwirkung des mit cellulär
Bestandtheilen in Contact gerathenen Giftstoffes (als des ma-
teriellen Trägers der Giftwirkung), sondern als eine Re-
wirkung, bedingt durch die physikalische Affinität zwisch
den intracellulären Angriffspunkten für das Tetanusg
einerseits und dem in die Axencylindersubstanz gerathen
activen Giftstoff andererseits (vgl. 1. Capitel, S. 26).

Unserem heutigen medicinischen Denken ist ja die Nebeneinand-
stellung der Vorgänge in der lebenden Nervensubstanz und der Ener
ausgleichungen in einem electrischen Stromkreise, mit Zwischenstation
in Gestalt von Ganglienzellen, ziemlich geläufig geworden. Helmhol
hat auf Grund seiner Entdeckung betreffend den ungeahnt niedrig
Werth für die Fortpflanzungsgeschwindigkeit der Nervenreizung die H
pothese aufgestellt, dass Nervenreize auf kleinste materielle Theilch
des Nerveninhalts übertragen werden, dass diesen Theilchen electromo
rische Kräfte zukommen, und dass die Fortleitung der Nervenreizu
„durch eine veränderte Anordnung der Molecüle wesentlich bedir.
ist." Wenn diese Hypothese richtig ist, dann werden wir uns wohl v
der Wahrheit nicht zu weit entfernen mit der Annahme, dass im Nerv
inhalt ein Vorgang ähnlich der Ionenwanderung stattfindet. In die
Falle aber werden wir uns eines anderen Satzes von Helmholtz
erinnern haben, welcher besagt: „Es ist nicht der wägbare Th
welcher von der Electrode angezogen wird. Wir müssen vi
mehr schliessen, dass die Ionen, nur weil und solange
electrisch geladen sind, zur entgegengesetzt geladenen El
trode angezogen werden."

Ich will mit diesem Citat nichts weiter erreichen, als dass e
Wirkung in distans, derart, dass von dem Ganglienzelleninhalt, auf d

Wege der Axencylindersubstanz, auf das in ihrem Wirkungsbereich gelegene Tetanusgift eine Attraction ausgeübt wird, nicht ausserhalb einer naturwissenschaftlich berechtigten Denkmöglichkeit liegt (vgl. Anm. S. 26).

Nunmehr kann ich es versuchen, die Goldscheider-Flatau'schen Experimente, welchen ich eine fundamentale Bedeutung für die Theorie des Zustandekommens der Tetanusvergiftung zuschreibe, im Zusammenhang von meinem wissenschaftlichen Standpunkt aus zu interpretiren.

Danach enthält das Tetanusgift, als ein noch mit einem Rest von Vitalität versehener Körper, freie Energie von entgegengesetzter Natur wie die, welche corpuscularen Elementen innerhalb der Ganglienzellen anhaftet, und zwar solche freie Energie, die Helmholtz (Biographie von Leo Königsberger, Bd. II, S. 376) für chemische Verbindungen definirt als „die Kraft zur Verbindung äquivalenter Mengen."

Geräth das active Tetanusgift $\binom{t}{+}$ in die Wirkungssphäre einer Ganglienzelle durch Vermittelung der zugehörigen Axencylindersubstanz, dann überträgt es seine freie Energie auf die giftempfindlichen Theile der Ganglienzellen $\binom{A}{-}$, neutralisirt dieselben (zu At), schafft dadurch ein Vacuum innerhalb der Axencylindersubstanz für $\underset{-}{A}$, wonach dann alle diejenigen Folgeerscheinungen eintreten, welche ich auf S. 25 u. 26 eingehend geschildert habe.

In den Versuchen von G. und F. handelte es sich zum grossen Theil um solche Giftzufuhr, die an sich zum Tode der Versuchsthiere geführt hätte, wenn man sie nicht vorzeitig für die Untersuchungszwecke getödtet hätte. Ich halte es deswegen für im hohen Grade wahrscheinlich, dass die Reizwirkung intensiv genug war, um nach einem vorübergehendem Stadium lebhafterer biologischer Thätigkeit intracelluläre Degenerationen und eine Nekrobiose einzelner Zellentheile noch vor dem Tode des Gesammtindividuums herbeizuführen. Man kann vielleicht die im Anfangsstadium der Giftwirkung beobachteten Bewegungserscheinungen am Kern und an den Nissl-Körperchen den bekannten amöboiden Locomotionen und Protoplasmaausstülpungen freibeweglicher Zellen an die Seite stellen. Solche Bewegungserscheinungen autonom-vitaler Theile in der Zelle werden bekanntlich durch acut wirkende Vergiftung rückgängig, was aber nicht als restitutio ad integrum, sondern als Nekrobiose zu deuten ist. Am gefärbten Präparat können wir hinterher nicht immer feststellen, ob die Nekrobiose intracellulär gelegener biologischer Einheiten dem Tode der ganzen Zelle voraufgegangen oder nachgefolgt ist, und ob andererseits der Zellentod früher oder später eingetreten ist wie der Tod des Gesammtindividuums. In der oben citirten Milzbrandarbeit habe ich mit Much es wahrscheinlich gemacht, dass ein so scharfes Abgesetztsein des Kerns vom Cytoplasma, wie G. und F. es für diejenigen Zellen beschreiben, welche sie als zur Norm zurückgekehrt beschreiben, an vorzeitig abgestorbenen Zellen zu beobachten ist, wenn man die Untersuchung unmittelbar hinterher, nachdem die Thiere getödtet sind, vornimmt.

Was ich vorher als Giftwirkung per distans geschildert habe, entspricht der Umwandlung meiner Formel:

$$\diagup\!\!\!\!-\underset{-}{A} \;.\;.\;.\;.\; \underset{+}{t}\!< \text{ in } \Big(> \underbrace{\underset{-}{A} - \underset{+}{t}}_{C} < \Big);$$

die weitere Umwandlung in

$$A\!< \; >\!t \text{ und } (At)$$

kann intracellulär erst erfolgen, wenn das materielle Giftmolecül dur[c]h die Axencylindersubstanz hindurch in das Innere der Ganglienzell[e] transportirt und dort mit dem corpusculären Antikörper direct i[n] Contact gerathen ist.

— — — · — —

Drittes Kapitel.

Zur Theorie der antitoxischen Tetanusgift-neutralisirung.

Gleich dem Tet. G. IIa erfährt auch Tet. G. XIa bei der Aufbewahrung unter Toluol eine stetig fortschreitende, aber allmählich in immer langsamerem Tempo erfolgende Abschwächung. Am $^{2}/_{\text{VI}}\ ^{03}$, nach 9tägigem Stehen bei Zimmertemperatur im verschlossenen Holzschrank war bei constant gebliebenem indirectem Giftwerth der directe Giftwerth auf 50.000 + Ms, 250.000 + M und 100.000 + K pro 1 Ccm. zurückgegangen, während 8 Tage später diese 3 Zahlen nur noch eine geringe Reduction erfahren hatten.

In diesem Stadium der retardirten Abschwächung, am $^{11}/_{\text{VI}}\ ^{03}$, wurde der nachfolgende Versuch angestellt.

5.

Ms 9·0 Nr. 3444	$^{11}/_{\text{VI}}\ ^{03}$ In 5 Ccm. { 4 Ccm. Tet. G. XIa 0·2143 A. E. Davon 0·4 Ccm. sk	$^{12}/_{\text{VI}}\ ^{03}$ — $^{13}/_{\text{VI}}\ ^{03}$ $^{14}/_{\text{VI}}\ ^{03}$ ═ $^{15}/_{\text{VI}}\ ^{03}$ † (nach 88 Stunden)

6.

Ms 10·0 Nr. 3443	$^{11}/_{\text{VI}}\ ^{03}$ In 5 Ccm. { 4 Ccm. Tet. G. XIa 0·2143 A. E. Davon $\frac{0·4 \text{ Ccm.}}{25}$ sk	$^{12}/_{\text{VI}}\ ^{03}$ — $^{13}/_{\text{VI}}\ ^{03}$ ≡ $^{14}/_{\text{VI}}\ ^{03}$ † (nach 60 Stunden)

7.

Ms 9·5 Nr. 3442	$^{11}/_{\text{VI}}\ ^{03}$ In 5 Ccm. { 4 Ccm. Tet. G. XIa 0·2143 A. E. Davon $\frac{0·4 \text{ Ccm.}}{250}$ sk	$^{12}/_{\text{VI}}\ ^{03}$ — $^{13}/_{\text{VI}}\ ^{03}$ † (nach 48 Stunden)

8.

Ms 10·0 Nr. 3441	11/VI 03 In 5 Ccm. { 4 Ccm. Tet. G. XIa 0·2143 A. E. Davon $\frac{0·4 \text{ Ccm.}}{2500}$ sk	12/VI 03 0 13/VI 03 0 14/VI 03 0 15/VI 03 — 16/VI 03 —

In der vorstehenden Versuchsreihe hatten 4 Mäuse subcutan die gleiche Mischlösung von Antitoxin und Gift bekommen, jedoch so, dass davon Ms Nr. 3443 25 mal, Ms Nr. 3442 250 mal und Ms Nr. 3441 2500 mal weniger in der gleichen Flüssigkeitsmenge erhielt als Ms Nr. 3444. Da finden wir nun das auf den ersten Blick paradoxe Ergebniss, dass bei der Maus Nr. 3442 die Dosis $\frac{0·4}{250}$ Ccm. stärker giftig gewirkt hat, als die 250 mal grössere Dosis bei der Maus Nr. 3444!

Es handelt sich hier nicht etwa um eine vereinzelte, ein derartiges Ergebniss zu Tage fördernde Versuchsreihe, in der vielleicht irgend wo und irgendwie ein Versuchsfehler mit untergelaufen sein könnte. Wenn man allenfalls den schnelleren Todeseintritt bei den mit starken Verdünnungen des antitoxinhaltigen Giftes behandelten Mäusen in den Protokollen No. 6 und 7 davon abhängig erklären wollte, dass diese Mäuse zufällig eine erhöhte Giftempfindlichkeit besessen hätten, so bliebe immer noch die scheinbar aller Erfahrung widersprechende Thatsache übrig, dass ein Stoff bei weitgehender Verdünnung gar keine Abnahme seiner krankmachenden Energie erfährt. Aber ich kann nicht einmal diesen Einwand, dass es sich bei der thatsächlich constatirten Vermehrung der Giftwirkung im Gefolge der 250 fachen Giftverdünnung um einen durch die Individualität der Versuchsmäuse bedingten Zufall handeln könne, zu Recht bestehen lassen; vielmehr habe ich schon in früheren Jahren derartig paradoxe Ergebnisse nicht bloss im Mäuseversuch, sondern auch im Meerschweinchenversuch beobachtet und u. A. im 2. Heft meiner „Beiträge“ S. 1092 darauf expressis verbis aufmerksam gemacht.

Dass bei der Maus No. 3441 mit 0·4 Ccm. von einer 2500 fachen Verdünnung des antitoxinhaltigen Giftes noch der L—Werth erreicht wurde, ist gleichfalls in hohem Grade überraschend, wenn man berücksichtigt, dass in der Dosis $\frac{0·4}{2500}$ Ccm. kaum mehr als 5 + Ms enthalten sind, also eine Giftdosis, die für eine Maus von 10 Grm. Gewicht auch ohne das mit eingespritzte Antitoxin wohl krankmachende, aber nicht tödtliche Wirkung entfalten könnte. Der d Werth berechnet sich im vorliegenden Fall auf die enorme Zahl von $\frac{+ \text{Ms}}{+ \text{Ms}} = 2500$. Ein ebenso grosser d Werth ist herauszurechnen für die im 2. Heft meiner „Beiträge“ S. 1092 von mir mitgetheilte Versuchsreihe an Meerschweinchen mit einer von Tetb. 1 abstammenden Giftlösung, und man wird den d Werth in anderen Versuchsreihen noch höher finden, wenn zur Herstellung der antitoxinhaltigen Mischung mit einem L † Werth Tetanusgifte mit noch grösserem Giftwerth gewählt werden.

Selbstverständlich fordert die in den bisherigen Giftstudien kaum ein Analogon findende Thatsache, dass ein und derselbe giftige Stoff ...

kleinerer Dosis stärkere Giftwirkung ausüben kann als in grösserer Dosis, unwiderstehlich zu Erklärungsversuchen auf. Trotzdem ich aber jahrelang immer wieder mit dem hier vorliegenden Problem mich beschäftigt und es von den verschiedensten Gesichtspunkten aus experimentell weiter verfolgt habe, wollte es mir bis zum Jahre 1903 nicht gelingen, in ganz befriedigender Art den Thatbestand aufzuklären. Bisweilen bekam ich auch Versuchsergebnisse, welche die Möglichkeit einer Giftigkeitsvermehrung durch Verdünnung einer antitoxinhaltigen Tetanusgiftlösung auszuschliessen schienen. So habe ich in den Jahren 1898 und 1899 über Versuche berichtet, denen zufolge die Annahme berechtigt erschien, dass mit der Verdünnung concentrirter Mischungen ihr Giftwerth im Princip ebenso abnehmen muss, wie bei der Verdünnung antitoxinfreier Giftlösungen, mit dem Unterschiede freilich, dass für die ersteren der d Werth grösser ist als für die letzteren (Deutsche med. Wochenschrift. 1898. No. 12 und 1. Heft meiner „Beiträge“ S. 1029).

Wegen der fundamentalen Bedeutung, welche die Analyse des d Werthes schliesslich für meine Theorie der antitoxischen Tetanusgiftneutralisirung gewonnen hat, sollen die früher von mir publicirten, hiergehörigen Protokolle an dieser Stelle verbotenus reproducirt werden.

Die im Jahre 1898 in der Deutschen med. Wochenschrift mitgetheilten Versuche 9 bis 25 haben folgenden Wortlaut:

„Für unser Testgift No. 2 fanden wir folgende Zahlenverhältnisse:

9)	Ms Nr. 1124.	6. December 1897	250.000 + Ms 240.000 — Ms	L
10)	Ms Nr. 1113.	6. December 1897	25.000 + Ms 24.000 — Ms	L
11)	Ms Nr. 1112.	6. December 1897	2.500 + Ms 2.400 — Ms	L
12)	Ms Nr. 1105.	6. December 1897	250 + Ms 240 — Ms	L† n. 3 Tagen
13)	Ms Nr. 1104.	6. December 1897	25 + Ms 24 — Ms	L

Diese sehr auffallende Thatsache (betreffend den abnehmenden giftneutralisirenden Werth des Tetanusantitoxins mit steigender Verdünnung seiner Lösung) findet wahrscheinlich darin ihre Erklärung, dass die Neutralisirung in stärker concentrirter Lösung von Gift und Antitoxin schneller vor sich geht, als in verdünnter Lösung. Lässt man nämlich die Lösungen längere Zeit, bis zu acht Tagen stehen, dann gleichen sich die Differenzen in dem Neutralisirungswerth fast vollständig aus. Wir haben die vorstehend bezeichneten Mischungen 48 Stunden lang auf Eis stehen lassen und fanden dann bei der erneuten Prüfung die Differenz schon sehr vermindert.

14)	Ms Nr. 1130.	8. December 1897	250.000 + Ms 240.000 Ms	L0
15)	Ms Nr. 1129.	8. December 1897	25.000 + Ms 24.000 — Ms	L0 (?)
16)	Ms Nr. 1128.	8. December 1897	2.500 + Ms 2.400 — Ms	L

17) Ms Nr. 1126. 8. December 1897 $\left.\begin{matrix}250 + \text{Ms}\\ 240 - \text{Ms}\end{matrix}\right\}$ L =

18) Ms Nr. 1104. 8. December 1897 $\left.\begin{matrix}25 + \text{Ms}\\ 24 - \text{Ms}\end{matrix}\right\}$ L0

Um die relative Abnahme des giftneutralisirenden Antitoxinwerthes bei verringerter Prüfungsdosis festzustellen, ist es nicht angängig, dass man eine concentrirtere Mischung verdünnt; man darf beispielsweise nicht, um zu der Mischung $\left.\begin{matrix}250 + \text{Ms}\\ 240 - \text{Ms}\end{matrix}\right\}$ in 0·5 Ccm. zu gelangen, die Mischung $\left.\begin{matrix}250.000 + \text{Ms}\\ 240.000 - \text{Ms}\end{matrix}\right\}$ in 0·5 Ccm. 1000 mal verdünnen. Wer das thun wollte, der würde gerade die umgekehrte Erfahrung machen, wie folgende Versuchsreihe zeigt:

Am 27. November 1897 mischten wir 10 Ccm. $\frac{\text{Tet. Gift Nr. 2}}{10}$ mit 10 Ccm. einer Antitoxinlösung, die in 1 Ccm. 3,200.000 — Ms enthielt; 1 Ccm der Mischung (M) bestand danach aus $\left.\begin{matrix}2,000.000 + \text{Ms}\\ 1,600.000 - \text{Ms}\end{matrix}\right\}$.

19) Ms Nr. 1005 27. Nov. 1897: 0·5 Ccm. M unverdünnt = $\begin{matrix}1,000.000 + \text{Ms}\\ 800.000 - \text{Ms}\end{matrix}$
28. Nov. 1897: =
29. Nov. 1897: =
30. Nov. 1897: † (nach $2^1/_2$ Tagen)

20) Ms Nr. 983 27. Nov. 1897: 0·2 Ccm. M unverdünnt = $\begin{matrix}400.000 + \text{Ms}\\ 320.000 - \text{Ms}\end{matrix}$
28. Nov. 1897:
29. Nov. 1897: =
30. Nov. 1897: † (nach $2^1/_2$ Tagen)

21) Ms Nr. 998 27. Nov. 1897: 0·5 Ccm. $\frac{M}{5} = \begin{matrix}200.000 + \text{Ms}\\ 160.000 - \text{Ms}\end{matrix}$
28. Nov. 1897: - -
29. Nov. 1897: =

Rë Nr. 972 27. Nov. 1897: 0·5 Ccm. $\frac{M}{50.000} = \frac{20 + Ms}{16 - Ms}$
28. Nov. 1897: 0
29. Nov. 1897: –
30. Nov. 1897: —
1. Dec. 1897: —
2. Dec. 1897: —
3. Dec. 1897: —
4. Dec. 1897: –
5. Dec. 1897: – ."

Bevor ich darauf eingehe, nach welcher Richtung die im Jahre diesen Versuchen hinzugefügte Interpretation mir gegenwärtig cor-bedürftig erscheint, bringe ich noch vorerst zwei Citate aus dem Heft meiner „Beiträge".

Im ersten Heft (S. 1028) sage ich:

„Lässt man 24—28 Stunden vergehen, ehe die fertig gestellte ung subcutan injicirt wird, dann ist der antitoxische Effect nicht sentlich grösser als nach dem Stehenlassen der Mischung bis zu stens 25 Minuten. Der Einfluss des 48 Stunden langen Stehens der ung wurde von mir in Gemeinschaft mit Ransom geprüft. Es te sich dabei, dass bei kleinen Prüfungsdosen dieser Ein-s viel grösser ist als bei grossen Prüfungsdosen, mit eren Worten: Beim Zusammenbringen concentrirter Lö-gen von Tetanusantitoxin und Tetanusgift erfolgt die mische Bindung in vitro innerhalb desselben Zeitraumes energischer und schneller als beim Zusammenbringen rk verdünnter Lösungen beider Körper. Für verschieden con-rirte Mischungen mit solchem Giftüberschuss, dass jede frisch her-ellte Mischung in 0·4 Ccm. die für Mäuse einfach tödtliche Minimal-s enthielt, also den L†Werth erreichte, fanden wir, dass L† nach itägigem Stehen

einer Mischung mit $^1/_{40000}$ A. E. in 0·4 Ccm. verwandelt wurde in L 0
" " " $^1/_{4000}$ A. E. " 0·4 " " " " L—
" " " $^1/_{1000}$ A. E. " 0·4 " " " " L—
" " " $^1/_{100}$ A. E. " 0·4 " " " " L—

Ich schliesse daraus, dass in allen diesen Mischungen noch unge-ndene Giftmolecüle nach dem Stehen bis zu 25 Minuten vorhanden ren, die erst später vom Antitoxin gebunden und damit entgiftet rden, dass jedoch beim Zusammenbringen stark verdünnter Lösungen s Antitoxins und des Giftes ein grösserer Procentsatz der Giftmolecüle gebunden neben den Antitoxinmolecülen fortexistirte."

Das zweite Citat (S. 1091 u. 1092) vom Jahre 1900 lautet folgender-assen:

„Bei der Feststellung des L0Werthes und des L—Werthes von ntitoxin und Gift mit einem Giftüberschuss (unausgeglichener iftrest Knorr's) darf man in den Kaninchenversuchen die Thiere icht zu schnell ausser Beobachtung lassen, da das Incubationsstadium

bis zum Eintritt deutlich wahrnehmbarer tetanischer Symptome 4 Tage und noch länger dauern kann.

Nach Injection von 0·4 Ccm. der Mischung: $\left.\begin{array}{r}{}^1/_2\text{ A. E.}\\ 7{\cdot}0\text{ Ccm. G. L.}\end{array}\right\}$ in 8 Ccm. Flüssigkeit starb ein Kaninchen von 1240 Grm. 4 Tage später; die ersten tetanischen Symptome traten 40 Stunden nach der Injection ein. Dagegen dauerte das tetanusfreie Incubationsstadium nach Injection von 0·4 Ccm. der Mischung: $\left.\begin{array}{r}{}^1/_2\text{ A. E.}\\ 6\text{ Ccm. G. L.}\end{array}\right\}$ in 8 Ccm. Flüssigkeit $3^1/_2$ Tage, und nach Injection von 0·4 Ccm. der Mischung: $\left.\begin{array}{r}{}^1/_2\text{ A. E.}\\ 4\text{ Ccm. G. L.}\end{array}\right\}$ in 8 Ccm. Flüssigkeit 5 Tage, wie die beiden folgenden Protokolle zeigen:

26.

Nr. 93 Ꝃ[1670]	$^3/_{\text{XI}}$ 99 $\left.\begin{array}{r}{}^1/_2\text{ A. E.}\\ 6\text{ Ccm. G. L.}\end{array}\right\}$ in 8 Ccm. davon: 0·4 Ccm. subcutan.	$^4/_{\text{XI}}$ 0
		$^5/_{\text{XI}}$ 0
		$^6/_{\text{XI}}$ 0
		$^7/_{\text{XI}}$ – – –
		$^8/_{\text{XI}}$ – – –
		$^9/_{\text{XI}}$ –
		$^{10}/_{\text{XI}}$ – – –
		$^{11}/_{\text{XI}}$ = – –
		$^{12}/_{\text{XI}}$ = – –
		u. s. w.

27.

Nr. 101 Ꝃ[1520]	$^3/_{\text{XI}}$ 99 $\left.\begin{array}{r}{}^1/_2\text{ A. E.}\\ 4\text{ Ccm. G. L.}\end{array}\right\}$ in 8 Ccm. davon: 0·4 Ccm. subcutan.	$^4/_{\text{XI}}$ 0
		$^5/_{\text{XI}}$ 0
		$^6/_{\text{XI}}$ 0
		$^7/_{\text{XI}}$ 0
		$^8/_{\text{XI}}$ — ?
		$^9/_{\text{XI}}$ ——
		$^{10}/_{\text{XI}}$ – – –
		$^{11}/_{\text{XI}}$ – – –
		$^{12}/_{\text{XI}}$ —
		$^{13}/_{\text{XI}}$ —
		u. s. w.

Was das Ansteigen von L0 zu L† bei Mäusen betrifft, wenn man in 8 Ccm. Flüssigkeit mit $^1/_2$ A. E. verschiedene Giftmengen untersucht, so verdient die schon von Knorr (1897) hervorgehobene Thatsache Erwähnung, dass man eine sehr grosse Zahl von + Ms zu der toxisch neutralen Mischung hinzufügen muss, um die tödtliche Minimaldosis zu erreichen. In meinen Versuchen mussten zu der Mischung: $\left.\begin{array}{r}{}^1/_2\text{ A. E.}\\ 3{\cdot}4\text{ Ccm. G. L.}\end{array}\right\}$ mit dem L0 Werth soviel + Ms hinzugefügt werden, dass in 0·4 Ccm. der neu entstandenen Mischung der Giftüberschuss circa 200.000 + Ms betrug; das macht für eine Maus von 20 Grm. 10.000 mal mehr + Ms aus, als von demselben Stoff in antitoxinfreier wässeriger Lösung zur Tödtung genügt.

Haben wir es mit solchen Mischungen zu thun, die Antitoxin und Gift in geringerer Concentration enthalten, so bleibt der Procentgehalt

[d]es Giftbedarfs zum Ansteigen von L0 zu L† fast genau derselbe; die [a]bsolute Zahl der tödtlichen Minimaldosen, welche zur Erreichung von L† erforderlich sind, fällt somit im arithmetischen Verhältniss mit der [V]erringerung des Gehaltes von neutralisirtem + Ms in der Mischung. In höchstem Grade bemerkenswerth ist das Verhalten von [s]olchen Tetanusgiftlösungen mit Antitoxinzusatz, welche einen [G]iftüberschuss enthalten, wenn man sie daraufhin prüft, [w]elcher Bruchtheil der tödtlichen Minimaldosis eben noch [k]rankmachend wirkt.

Von der Mischung $\left.\begin{matrix}\frac{1}{2}\text{ A. E.}\\ 4\text{ Ccm. G. L.}\end{matrix}\right\}$ in 8 Ccm. Flüssigkeit gab Ransom [e]iner Serie von Meerschweinen je 0·4 Ccm. von einer 10fachen, [1]00fachen, 1000fachen, 10.000fachen Verdünnung. Die folgenden Protokolle geben Auskunft über das Resultat:

28.

Nr. 358 M^400	5/XI 99 0·4 Ccm. $\frac{\text{Mischung}}{10}$	7/XI 0
		8/XI =
		9/XI ≡
		10/XI †

29.

Nr. 357 M^395	6/XI 99 0·4 Ccm. $\frac{\text{Mischung}}{100}$	7/XI 0
		8/XI —
		9/XI =
		10/XI =
		11/XI =
		12/XI =
		u. s. w.

30.

Nr. 356 M^400	6/XI 99 0·4 Ccm. $\frac{\text{Mischung}}{1000}$	7/XI 0
		8/XI 0
		9/XI 0
		10/XI —
		11/XI =
		12/XI =
		u. s. w.

31.

Nr. 355 M^390	6/XI 99 0·4 Ccm. $\frac{\text{Mischung}}{10\cdot000}$	7/XI 0
		8/XI 0
		9/XI —
		10/XI =
		11/XI —
		12/XI —

Wir sind also mit einer 10.000fachen Verdünnung noch nicht an die Grenze der krankmachenden Wirkung gekommen, und bei dem Meerschweinchen Nr. 355 schien anfangs sogar die 10.000fache Verdünnung stärker wirksam zu sein wie die 1000fache Verdünnung bei Nr. 356.

centisch berechnet — der auch ohne Antitoxinzusatz durch tetanische Symptome nicht mehr erkennbare Giftantheil immer grösser, und es müsste demgemäss der zur Erreichung von L 0 erforderliche Antitoxinzusatz in vitro mit abnehmender Prüfungsdosis immer kleiner werden.

Wenn in der That in vitro von einem Gleichgift, in welchem 1 + Ms = 1 + ms ist, durch 1 — Ms stets 1 + Ms genau neutralisirt wird, und wenn von einer Maus von 15 gr Gewicht 3 + Ms auch ohne Antitoxinzusatz vertragen werden, ohne dass danach auch nur eine Spur von Tetanus auftritt, dann sind doch bloss noch 12 + Ms antitoxisch zu beseitigen, um zum L0Werth zu gelangen, und wir müssten danach a priori folgende Formel erwarten:

$$\mathfrak{Ms}^{15} \text{ in } 0{,}4 \text{ Ccm. } \begin{cases} 15 + \text{Ms} \\ 12 - \text{Ms} \end{cases} = \text{L } 0$$

Statt dessen erfahren wir im Experiment, dass die Formel lautet: $\mathfrak{Ms}^{15}$ in 0.4 Ccm. $\begin{cases} 15 + \text{Ms} \\ 120 - \text{Ms} \end{cases}$ = L 0 (cfr. „Beiträge“, Heft 1, S. 1022ff.).

Wie man aus dem auf S. 36 dieser Arbeit reproducirten Citat erkennen kann, habe ich im Jahre 1900 dieses paradoxe Phänomen folgendermassen zu interpretiren versucht.

Ich nahm an, dass die im Thierversuch festzustellende Unschädlichmachung einer Giftlösung durch Antitoxinzusatz in vitro, sowohl bei der Anwendung grosser wie kleiner Prüfungsdosen, auf eine chemische Bindung zurückzuführen ist, dass aber die chemische Bindung beim Zusammenbringen stark verdünnter Lösungen beider Körper sich langsamer und weniger vollständig vollzieht, wie beim Zusammenbringen concentrirter Lösungen. Für diese Annahme schien die Verwandlung des L† Werthes in L— und L0 Werthe bei solchen Mischungen zu sprechen, die man längere Zeit stehen liess, ehe sie den Versuchsthieren subcutan eingespritzt wurden. Spätere Controlversuche haben mich aber davon überzeugt, dass die Giftwerthverminderung in tagelang stehengelassenen Mischungen von Antitoxin und Gift nicht nothwendig auf eine antitoxische Entgiftung bezogen werden muss, sondern dass sie ihre Entstehung auch einer vulgären Giftabschwächung verdanken kann, und in Wirklichkeit wohl fast ausnahmslos einer vulgären Giftabschwächung verdankt.

Schon seit längerer Zeit habe ich dann noch eine andere Interpretation erwogen, wonach bei starker Verdünnung in vitro gemischter Gift- und Antitoxinlösungen eine Dissociation des Giftmolecüls vom Antitoxinmolecül eintritt, ähnlich wie man das annimmt von Salzmolecülen, deren Componenten nach starker Verdünnung sich von einander trennen können.

Diese Dissociationshypothese habe ich in Gemeinschaft mit Römer 1903 von Neuem einer experimentellen Prüfung unterzogen, und anfänglich schien es uns, als ob wir mit ihrer Hilfe die auf den ersten Blick paradoxen Neutralisirungsverhältnisse in ganz befriedigender Weise aufklären könnten, so dass wir uns über die in der Annahme einer Ionenwanderung zusammengesetzter Proteinmolecüle liegenden Schwierigkeiten ohne grosse Bedenken hinwegsetzten.

Die sorgfältige Analyse der im Nachfolgenden mitgetheilten Ver-

suchsprotokolle liefert aber den Beweis, dass wir auch die Dissociationshypothese als untauglich zum Verständniss der experimentell festzustellenden Thatsachen, betreffend die Entgiftungsverhältnisse von in vitro gemischtem Antitoxin und Gift, verwerfen müssen, und dass wir statt dessen mit einer Hypothese zu rechnen haben, die darauf hinausläuft, dass in vitro eine chemische Bindung zwischen Antitoxin und Gift entweder nur unvollständig oder gar nicht stattfindet, und dass unter gewissen Umständen der antitoxische Entgiftungsprocess sich erst in vivo abspielt. Den hierher gehörigen Versuchsreihen muss ich einige Bemerkungen voraufschicken, die sich auf die Wahl der Tetanusheilsera beziehen, von welchen ich dieses Mal aus besonderen Gründen Gebrauch gemacht habe.

Wir haben in Marburg im Laufe der letzten Jahre, seitdem mit besonderer Sorgfalt die gewissermaassen spontan, d. h. ohne absichtliche Beeinflussung durch chemische oder physikalische Agentien, am Tetanusantitoxin sich vollziehenden Modificationen verfolgt werden, die Erfahrung gemacht, dass die von Pferden gewonnenen Tetanusheilsera während des gleichen Zeitraums im Mischungsversuch mehr abgeschwächt erscheinen, wie die Diphtherieheilsera. Das gilt namentlich für die ersten Tage und Wochen, von dem Zeitpunkt ab gerechnet, wo das Serum sich aus dem Blute abgeschieden hat. Wurde beispielsweise ganz frisches Serum zur Prüfung nach Frankfurt geschickt, so fand man dort ein in Marburg als 20fach designirtes Serum kaum mehr als 10fach, und wenn wir dann von Neuem die zurückbehaltenen Serumproben der Prüfung in Marburg unterwarfen, so konnten wir lediglich die Frankfurter Bewerthung als richtig anerkennen. Aber auch nach 14tägigem Stehen ist der Abschwächungsprocess noch nicht beendigt, sodass während des durchschnittlich 14 Tage dauernden Zeitraums zwischen der Serumabsendung und der in Frankfurt beendeten Serumprüfung immer noch eine Abschwächung um ca. 25 pCt. des in Marburg festgestellten Werthes sich ergab. Erst bei monatelang aufbewahrten Seris war der Abschwächungsprocess so verlangsamt, dass in Marburg und Frankfurt identische Werthe erhalten wurden.

Aus diesen Erfahrungen musste die Lehre entnommen werden, dass wir so subtile Versuche, wie die folgenden es sind, volle Garantie geboten war, dass wir es mit solchem Tetanusantitoxin zu thun hatten, dessen vorher ermittelter Werth nicht von einem Tage zum anderen schon eine nennenswerthe Einbusse im Mischungswerth erkennen lässt.

Dieser Anforderung entsprachen in unseren Serumvorräthen am meisten zwei schon mehrere Jahre in grosser Quantität aufbewahrte Präparate, von welchen das eine — Tet. H. S. IVa — ein Carbolsäure enthaltendes flüssiges Heilserum ist und in 1 Ccm. 3,6 A. E. enthält, also Tet. A N 3,6 zu schreiben ist, während das andere — Tet. H. S. 63 — ein carbolsäurehaltiges Trockenpräparat mit 55 A. E. in 1 Gr. ist = Tet. A N 55. Die Werthe 3,6fach bezw. 55fach werden gefunden, wenn man für die zum Zweck der Prüfung erforderlichen Verdünnungen destillirtes Wasser wählt; nimmt man dagegen eine schwach alkalische proc. Kochsalzlösung für die Verdünnungen, so erweisen sich die Anti-

toxinwerthe um etwa 20 pCt. höher. Wir bezeichnen unsere in grosser Quantität für Auflösungs- und Verdünnungszwecke vorräthig gehaltene alkalische Kochsalzlösung mit dem Buchstaben „L“ und schreiben demgemäss entweder „L“ oder „aq. dest.“ in unseren Protokollen, je nachdem das eine oder das andere Verdünnungsmittel angewendet worden ist. Bei dem Trockenantitoxin No. 63 macht es auch noch einen Unterschied aus, ob man sich eine 10proc. oder 1proc. oder 0,1proc. Stammlösung davon herstellt, und zwar ist der Antitoxinwerth um so höher, je stärker verdünnt die Stammlösung ist. Der Werth Tet. A N 55 für Tet. H S No. 63 wird gefunden, wenn man von einer 10proc. Stammlösung in aq. dest. ausgeht und aq. dest. auch für die weiteren Verdünnungen anwendet.

Ich habe dann noch weiter zu bemerken, dass die angegebene Bewerthung unter Benutzung des Tet. G. XIa als Testgift unter der Voraussetzung erfolgt ist, dass 1 A. E. von Tet. H. S. 63 bezw. von Tet. H. S. IVa mit 0·02 Ccm. Tet. G. XIa den L0 Werth giebt und dass 1 Ccm. Tet. G. XIa 2,000.000 + ms enthält, wonach XIa zu schreiben ist Tet. T. $N^{0.05}$.

Das Tet. G. XIa hat während der Monate Juni und Juli 1903 nicht bloss seinen indirecten, sondern auch seinen directen Giftwerth mit $\left.\begin{array}{l}50.000 + Ms\\ 250.000 + M\\ 100.000 + K\end{array}\right\}$ pro 1 Ccm. fast unverändert behalten und sich dadurch als Testgift in ganz vorzüglicher Weise bewährt. Seine quantitativen Beziehungen zu Tet. H. S. 63 und Tet. H. S. IVa im Mischungsversuch können aus den nachstehenden Protokollen erkannt werden, welche nur als Beispiele ausgewählt worden sind aus vielen an verschiedenen Tagen ausgeführten Prüfungen mit gleichlautendem Ergebniss.

32.

Ms 10	15/VI 03	16/VI 03 0

35.

$Ms^{10\cdot0}$	18/VI 03	19/VI 03 – –
Nr. 3464	In 4 Ccm. { 0·2 Ccm. Tet. G. XIa; 1/325 aq. dest. Tet. H. S. IVa	20/VI 03 =
		21/VI 03
	Davon: 0·4 Ccm. sk	† nach 84 Std.

36.

$Ms^{10\cdot0}$	18/VI 03	19/VI 03 0
Nr. 3464a	In 4 Ccm. { 0·2 Ccm. Tet. G. XIa; 1/275 aq. dest. Tet. H. S. IVa	20/VI 03 0
		21/VI 03 0
	Davon: 0·4 Ccm. sk	22/VI 03 0

Unter Zugrundelegung der durch die Versuche No. 32 bis 36 charakterisirten Mischungswerthe habe ich nun in Gemeinschaft mit Römer solche Mischungen hergestellt, welche in concentrirtem Zustande tetanuskrank machende Wirkung besitzen, und an derartigen Mischungen den dWerth ermittelt. Dabei konnten wir dann bald die merkwürdige und in theoretischer Beziehung ausserordentlich wichtige Thatsache bestätigen, dass sich Versuchsanordnungen construiren lassen, in welchen mit zunehmender Verdünnung der Giftwerth der Mischungen von Antitoxin und Gift nicht abnimmt, sondern zunimmt, welche Thatsache schon im Beginn dieses Kapitels durch Versuchsprotokolle (No. 5 bis 8) illustrirt worden ist.

Da es sich hier um eine ganz regelmässig auftretende Erscheinung handelt, falls nur die Versuchsbedingungen richtig gewählt werden, so kann ich auf die Wiedergabe unserer gesammten diesbezüglichen Versuchsreihen verzichten und mich begnügen mit der in Protokoll Nr. 37 bis 41 wiedergegebenen Versuchsreihe an Meerschweinchen, in welcher folgende Mischung

{ 100 Ccm. Tet. G. XIa
{ 25 Ccm. 1/19 aq. dest. Tet. H. S. IVa = M I

verwendet wurde.

37.

M^{340}	29/VI 03	30/VI 03 0
Nr. 4664	5 Ccm. von M I sk	1/VII 03 0
6/VII 03 360 Grm.		2/VII 03 — ?
		3/VII 03 — –
		4/VII 03 –
		5/VII 03
		6/VII 03 –
		10/VII 03 0

38.

M^{320}	29/VI 03	30/VI 03 0
Nr. 4648	0·1 Ccm. von M I sk	1/VII 03 0
6/VII 03 350 Grm.		2/VII 03 0 ?
		3/VII 03 – ?
		4/VII 03 –
		5/VII 03 — ?
		6/VII 03 0

39.

	29/VI 03	
M250 Nr. 4657 6/VII 03 250 Grm. 4/VII 03 250 Grm.	0·1 Ccm. von M I sk in 5 Ccm. aq. dest.	30/VI 03 0 1/VII 03 ? 2/VII 03 3/VII 03 == 4/VII 03 = 6/VII 03 – 14/VII 03 –

40.

	29/VI 03	
M250 Nr. 4658 6/VII 03 250 Grm. 14/VII 03 240 Grm.	0·01 Ccm. von M I sk in 5 Ccm. aq. dest.	30/VI 03 0 1/VII 03 0 2/VII 03 – ? 3/VII 03 – 4/VII 03 – 5/VII 03 – 14/VII 03 —

41.

	29/VI 03	
M265 Nr. 4659	0·001 Ccm. von M I sk in 5 Ccm aq. dest.	30/VI 03 0 1/VII 03 0 2/VII 03 0 ? 3/VII 03 – – 4/VII 03 – 5/VII 03 – ? 6/VII 03 0.

Diese Versuchsreihe beweist womöglich in noch stärkerem Gra[de] die Giftigkeitszunahme von Mischlösungen als Folge ihrer Verdünnu[ng] wie die Versuche 5—8.

5 Ccm. von der concentrirten Lösung haben noch gerade eine de[ut]lich erkennbare, aber in wenigen Tagen vorübergehende tetanuserzeugen[de] Wirkung, die noch weiter abnimmt und nicht mehr mit Sicherheit s[ich] feststellen lässt, wenn die eingespritzte Dosis verringert wird bis [zu] 0,1 Ccm. Dagegen erzeugt der 50. und der 500. Theil der gerade no[ch] deutlich krankmachenden Dosis (0,1 Ccm. in Versuch 39 und 0,01 Ccm. in Versuch 40) einen starken und lange anhaltenden Tetanus, wenn ma[n] diese Bruchtheile mit Wasser soweit verdünnt, dass die eingespritzte Dos[is] wieder auf 5 Ccm. gebracht wird, und erst der 5000. Theil hat dann na[ch] der Verdünnung ungefähr wieder die gleiche tetanuserzeugende Wirku[ng] wie 5 Ccm. der concentrirten Mischlösung!

Ich will an dieser Stelle nicht weiter eingehen auf die mannigfache[n] Ueberlegungen darüber, welche Hypothesen man möglicherweise zum Verständniss dieser merkwürdigen Thatsachen ersinnen könnte, sondern ich begnüge mich mit dem Hinweis auf die in den beiden ersten Capite[ln] charakterisirte Rolle, welche ich dem zum Eintritt der antitoxischen Gif[t]neutralisirung erforderlichen Conduktor C zuschreibe. Unter Berück-sichtigung meiner früheren Auseinandersetzungen darüber mag dann de[r]

.eser die Interpretation der im Nachfolgenden zusammengestellten Neuralisirungsverhältnisse versuchen, welche im Experiment festgestellt ;orden sind.

Die thatsächlich festgestellte Entgiftung von 16.000 + Ms bis zu ' + Ms durch Antitoxinzusatz in dem Versuch No. 5 kann unmöglich ine endgiltige sein, denn wenn in 0·4 Ccm. der unverdünnten antitoxin-altigen Giftlösung aus dem Versuch No. 5 bloss noch 9 + Ms von den or dem Antitoxinzusatz in 0·4 Ccm. vorhandenen 16.000 + Ms übrig eblieben, 15.991 + Ms aber definitiv beseitigt wären, dann dürften)·4 Ccm. von der $^1/_{25}$ Verdünnung nie mehr als $\frac{9}{25}$ + Ms, 0·4 Ccm. on der $^1/_{250}$ Verdünnung nie mehr als $\frac{9}{250}$ + Ms enthalten. Statt lessen treten in 0·4 Ccm. der $^1/_{250}$ Verdünnung mehr als 9 + Ms auf!

Im Versuch 37 hat das Meerschwein Nr. 4664 mit 5 Ccm. M I den ,–Werth erreicht; 5 Ccm. wären danach = 340 + M, woraus sich der Verth von ca. 70 + M für 5 Ccm. und von 14 + M von 1 Ccm. M I erechnen liesse, wenn es sich um das antitoxinfreie Tet. G XIa handeln vürde. Dagegen würden wir aus dem Versuch 40, in welchem das 250 gr schwere Meerschwein No. 4658 mit 0,01 Ccm. von M I den , = Werth erreichte, für eben dieselbe Mischung 0,01 Ccm. zu ca. 125 + M erechnen müssen und für 1 Ccm. M I den Werth von 12 500 + M bekommen!

Viertes Kapitel.

Zur antitoxischen Tetanustherapie.

Man begreift mit Leichtigkeit, dass bei der Antitoxinbewerthung eines und desselben Tetanusheilserums, selbst wenn man immer ein und dasselbe Testgift zur Bewerthung wählt, ganz verschiedene Prüfungsergebnisse herauskommen müssen, je nach der Concentration der Mischlösungen, je nach den Resorptionsverhältnissen und anderweitigen Eigenthümlichkeiten der uns zum Reagens dienenden lebenden Thiere. Die hierin liegenden Schwierigkeiten der Antitoxinbewerthung können aber überwunden werden, und sie sind thatsächlich von **Ehrlich** und mir überwunden worden, seitdem **Ehrlich** meine in Marburg ausgearbeitete Technik der Antitoxinbewerthung im Mischungsversuch auch für sein Frankfurter Institut acceptirt hat. Unsere unabhängig von einander in Marburg und Frankfurt ausgeführten Werthbestimmungen geben in der That so gut übereinstimmende Ergebnisse, dass wir vielleicht mit grösserer Genauigkeit und mit geringeren Fehlerquellen arbeiten können, als wie das bei quantitativen Werthbestimmungen der Physiker und Chemiker der Fall ist.

Ganz anders liegt aber die Sache, wenn man nun weiter fragt, ob denn durch noch so genaue und technisch einwandsfreie Antitoxinbewerthungen im Mischungsversuch eine sichere Auskunft darüber erhalten wird, was beispielsweise ein Tetanusheilserum mit 10 A.-E. pro 1 Ccm. im Schutzversuch und im Heilversuch leisten wird. Ich sagte oben:

„Bei der alleinigen Bestimmung des Mischungswerthes konnten wir uns so lange beruhigen, als die Voraussetzung ohne weitere Kritik als richtig hingenommen wurde, dass Antitoxinlösungen genügend charakterisirt werden durch ihren Gehalt an A.-E., derart, dass zwei Antitoxinlösungen von verschiedener Herkunft, von verschiedenem Alter, nach verschiedener Art der Aufbewahrung, bei verschiedenem Gehalt an Proteïn-, Salz- und anderen Bestandtheilen, wenn sie in 1 Ccm. genau die gleiche Zahl von A.-E. bei einer gut determinirten Versuchsanordnung erkennen lassen, auch in Bezug auf die therapeutischen Functionen zuverlässig genau den gleichen Werth haben."

Wir haben nun gesehen, dass diese Voraussetzung nicht in Wirklichkeit zutrifft. Ich hoffe aber, in gemeinsamer Arbeit mit **Ehrlich** auch die in der ungenügenden Zuverlässigkeit des Mischungswerthes für die Beurtheilung der therapeutischen Leistungsfähigkeit eines Tetanusheilserums

egenden Schwierigkeiten beseitigen zu können. Inzwischen prüfe ich eine Tetanusheilsera nicht bloss auf ihren Mischungswerth, sondern ich auf den Schutzwerth und Heilwerth im Thierexperiment.

Das ist eine sehr mühsame und grösstes Sachverständniss erforernde Arbeit, welche in den Höchster Farbwerken nicht geleistet werden ann. Ich habe daher die Production meiner Tetanusheilsera anz nach Marburg verlegt und ihren geschäftlichen Vertrieb er Marburger Firma Dr. Siebert und Dr. Ziegenbein übergeben. m 15. August 1903 ist diese Firma zur Bekanntgebung der nachlgenden Gebrauchsanweisung von mir ermächtigt worden:

„Behring's Tetanusheilserum.

Gebrauchsanweisung für Marburger Tetanusheilserum.

)argestellt von Prof. v. Behring, staatlich geprüft von Prof. Ehrlich im Frankfurter Institut für Experimentelle Therapie.)

Das Marburger Tetanusheilserum, dessen alleiniger geschäftlicher ertrieb uns von Prof. v. Behring übergeben ist, wird von uns in den andel erst dann gebracht, nachdem seine Wirksamkeit und Unschädchkeit im Auftrage des Preussischen Cultusministeriums von Prof. hrlich controllirt worden ist.

Wir geben das Heilserum in zwei Abfüllungen ab, nämlich zu je)0 Antitoxineinheiten = A.-E. à 15 Mark, und zu 20 A.-E. à 3 Mark.

100 A.-E. repräsentiren bei subcutaner Einspritzung die einfache eildosis für Menschen und Pferde, wenn die Einspritzung alsbald nach er festgestellten Tetanusdiagnose vorgenommen wird.

20 A.-E. sind subcutan einzuspritzen, wenn eine Verletzung stattefunden hat, von welcher man vermuthet, dass dabei eine Infection mit etanusvirus erfolgt ist, z. B. Verletzungen durch Holzsplitter, rostige ägel, Glasscherben u. s. w.; Quetschwunden, Hautverletzungen, bei elchen Erdpartikel oder Kleiderfetzen in die Gewebe gelangt sind; perationswunden, erzeugt durch unreine Instrumente — Nabelschnurirchschneidungen, Castrationen, Operationen auf Schlachtfeldern, Plantaentfernungen — überhaupt solche Läsionen, welche erfahrungsmäss besonders häufig zur Entstehung des Tetanus Veranlassung geben.

Die subcutane Einspitzung ist in allen Fällen, in welchen man die fectionsstelle kennt, so auszuführen, dass das Heilserum in möglichst nigen Contact kommt mit den inficirten Geweben. Andernfalls spritze an es in die Subclaviculargegend ein, von wo es sehr schnell in die utbahn aufgenommen wird. Wo in der inficirten Wunde Fremdkörper rhanden sind, ist nach deren Entfernung das inficirte Gewebe mit renchymatösen Heilseruminjectionen zu behandeln.

Durch die neueren Untersuchungen im Marburger Pharmacologischen stitut ist mit absoluter Sicherheit festgestellt, einerseits, dass der etanusinfectionsstoff von der Axencylindersubstanz der peripherischen erven aufgenommen und zum centralen Nervensystem fortgeführt wird, idererseits, dass das Tetanusantitoxin nicht im Stande ist, auf dem ervenwege den Infectionsstoff zu erreichen. Weiterhin ist durch ad hoc gestellte Experimente bewiesen worden, dass man durch Antitoxininction in das giftresorbirende Nervenparenchym den sehr langsam er-

folgenden Gifttransport zum Rückenmark künstlich unterbrechen und dadurch die deletäre Wirkung der tetanischen Infection verhüten, beziehungsweise nach schon eingetretenem Tetanus vermindern kann. Beim Menschen ist eine derartige Nerveninjection in der Marburger Chirurgischen Klinik thatsächlich in einem sehr acut verlaufenden Tetanusfall mit Erfolg ausgeführt worden. Wo Tetanusfälle sich in chirurgischer Behandlung befinden, ist neben der subcutanen Heilserumbehandlung der Versuch, den schon von dem Nervensystem aufgenommenen Giftantheil durch neurale Injectionen unschädlich zu machen, dringend anzurathen. Die experimentelle Begründung dieser Indication ist ausführlich dargelegt in der Arbeit von Hans Meyer und Fred Ramson: „Untersuchungen über den Tetanus“ (Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmacologie, Bd. XLIX). Im Uebrigen verweisen wir auf Behring's Publication: „Experimentelle und statistische Beweismittel für therapeutische Leistungen“ im März-Heft der Therapie der Gegenwart (G. Klemperer) 1900.

Von besonderer Wichtigkeit ist noch, zu wissen, dass das Tetanusantitoxin aus dem Blute des Menschen ziemlich schnell wieder verschwindet, und dass man deswegen die Heilserumeinspritzung wiederholen muss, falls am Infectionsherd sich noch Tetanusviren befindet, welches immer neues Gift abscheiden kann.

Aus dem Pasteur-Institut in Paris ist der Vorschlag gemacht worden, pulverisirtes Trockenantitoxin in tetanusinficirte Wunden zu streuen. Dieser Vorschlag ist experimentell gut begründet, und wir geben deswegen auch kleine Fläschchen zum Preise von 3 Mark mit 20 A.-E. Trocken-Antitoxin ab, welches zum Einstreuen in inficirte Wunden besonders geeignet ist.

Dieses Trockenpräparat kann aber auch in 10 Ccm. sterilisirtem 1 proc. Kochsalzwasser gelöst, zur parenchymatösen Injection in inficirte Gewebe mit Vortheil verwendet werden. Wegen seiner grossen Haltbarkeit und seines mässigen Preises ist dieses Trockenpräparat sehr geeignet, um nicht bloss in Apotheken und Krankenhäusern, sondern auch von jedem practischen Arzte vorräthig gehalten zu werden, sodass im Nothfall immer sofort eine Heilserumbehandlung eingeleitet werden kann.

Zur Neutralisirung des im Blute beim Beginn des Tetanus circulirenden Tetanusgiftes reicht in der Regel auch schon die kleine Serumquantität mit 20 A.-E. aus, und wenn dann hinterher der Kranke zur energischen Heilserumbehandlung in eine chirurgische Krankenhausabtheilung gebracht wird, so sind die Aussichten für ein glückliches Ueberstehen der tetanischen Erkrankung günstiger, als wenn selbst ein Multiplum von 100 A.-E. erst dann eingespritzt wird, wenn die Erkrankung schon weiter vorgeschritten ist und tagelang gedauert hat.

Prof. v. Behring hat in seinen Publicationen wiederholt die grosse Wichtigkeit der sofortigen Heilserumbehandlung nach festgestellter Tetanusdiagnose betont und darauf aufmerksam gemacht, dass ein Zeitverlust in der Heilserumbehandlung von 24 bis 36 Stunden schon über Leben und Tod tetanuskranker Individuen entscheiden kann.

Im Auftrage des Herrn Geheimrath v. Behring fügen wir diese Gebrauchsanweisung noch die Bitte hinzu, nach dem Ablauf der ärztlichen Beobachtung des behandelten Falles das anliegende statistische Schema unter der Adresse:

An
die Experimentelle Abtheilung des Hygienischen Instituts
Marburg a. d. Lahn

mit den entsprechenden Daten ausgefüllt einsenden zu wollen.

Marburg a. d. Lahn, den 15. August 1903.

Dr. Siebert und Dr. Ziegenbein."

Behring's statistisches Schema für die mit Marburger Tetanusheilserum behandelten Tetanusfälle.

I.	Behandelnder Arzt		
II.	Behandlung im Privathaus		
III.	Behandlung im Krankenhaus	a) Innere Abtheilung	
		b) Chirurgische Abtheilung	
IV.	Nationale des Patienten	a) Name, Geschlecht und Wohnort	
		b) Alter	
V.	Infections-modus	a) Tag und Art der Verletzung	
		b) Infectionsstelle	
		c) Träger des Infectionsstoffes (Fremdkörper)	
VI.	Prognose nach dem Urtheil des behandelnden Arztes und Begründung der Prognose.		
VII.	Ausbruch der ersten Tetanussymptome, wann und an welchem Körpertheil?		
VIII.	Heilserum-behandlung	a) Beginn der Behandlung 1. an welchem Tag?	
		2. welche Applicationsart? (Injectionsmethode, Körpergegend)	
		3. mit wieviel Antitoxineinheiten und von welcher Controllnummer der Fläschchen?	
		b) Weitere Serumbehandlung	
IX.	Anderweitige Behandlung	a) vor der Heilserumbehandlung	
		b) nach der Heilserumbehandlung	
X.	Ausgang	a) Heilung am ? Tage nach Ausbruch des Tetanus	
		b) Tod am ? Tage nach Ausbruch des Tetanus	
XI.	Besondere Bemerkungen		

[illegible]

[illegible] Rose in Bezug auf den Erfolg [illegible] des Tetanus: „Dass die Erfolge bis jetzt nicht gross [illegible] wie wir sehen, die Statistik im Grossen gezeigt; die [illegible] des Wundstarrkrampfes beträgt eben 88 pCt.

[illegible] Fällen kommt einer durch! Kann auch manchmal [illegible] Zahlen ein oder der andere Beobachter mehr als gewöhnlich [illegible] Resultaten begünstigt erscheinen, so fragt sich dabei doch [illegible] dabei etwa auf die zufällige Häufung leichter Formen kommt [illegible]

Rose kennt sehr gut auch ziemlich grosse Statistiken, welche [illegible] kleinere Sterblichkeitsziffern ausrechnen, z. B. die Statistik von Friederich[2] aus dem Jahre 1837. In dieser Statistik handelt es sich aber [illegible] aus der Literatur zusammengesuchte Einzelfälle, und wenn Friederich bloss 53 pCt. Sterbefälle hat unter 252 Fällen, so sagt Rose mit Recht dazu (S. 478): „Solche Zusammenstellungen aus der in der Literatur vorliegenden Casuistik, wie sie zuerst Friederich gemacht, haben [illegible] ringen Werth, weil ja meist nur die seltenen Vorkommnisse mitgetheilt werden, und das ist ja beim Tetanus schon eine Heilung."

1) An anderer Stelle macht Rose darauf aufmerksam, dass in Bethanien [illegible] von puerperalem Tetanus und von Tetanus neonatorum gänzlich fehlen.

2) Friederich, „De Tetano traumatico." Diss. inaug. Berlin 1837.

Ebenso ist zu beurtheilen die von **Carl Theodor Curschmann** iber 912 Fälle sich erstreckende Statistik mit sogar bloss 44,6 pCt. Letalität. Diese Statistik ist in einer 1889 erschienenen Erlanger Dissertation enthalten, welche auch heute noch recht lesenswerth ist. Der Verfasser, welcher seine Dissertation unter der Leitung von **Heine** und **Graser** angefertigt hat, kennt augenscheinlich die grösseren Statistiken mit ununterbrochenen und deswegen statistisch gut verwerthbaren Zahlenreihen aus den Originalarbeiten.[1])

Er selbst hat seine Fälle aus casuistischen Publicationen zusammengesucht, und sagt über das Letalitätsergebniss (l. c. S. 17): „Ich finde bei 912 von mir aus der Literatur zusammengestellten Erkrankungen nur 407 Fälle mit letalem Ausgang oder 44,6 pCt. Die von Friederich und von mir gefundenen Resultate sind jedenfalls viel zu günstig, da in der Literatur Heilungen fast durchweg, letal verlaufene Fälle jedoch oft nur dann veröffentlicht werden, wenn sich irgend welche interessante Nebenerscheinungen darboten. Jedenfalls beweist die statistische Zusammenstellung aus Spitälern, dass unter 100 Erkrankungen an Tetanus ungefähr 85 ihren Ausgang in Tod nehmen."

Wo das Tetanusheilserum zur Anwendung gelangt, findet man überall bei der Aneinanderreihung vieler Fälle zu einer ansehnlichen Statistik die Tetanussterblichkeit ungefähr um die Hälfte (40—45 pCt.) vermindert. Das ist aber noch eine viel zu hohe Sterblichkeitsziffer, welche erheblich heruntergedrückt werden wird, wenn gleich dem Diphtherieheilserum auch das Tetanusheilserum überall in Stadt und Land beim Bedarfsfall sofort zur Hand ist. Auch bei der Diphtherie würde die Heilserumbehandlung auf die Herabsetzung der Sterblichkeitszahl in der Statistik nicht den grossen, jetzt überall anerkannten Einfluss ausüben, wenn man in jedem Einzelfall das Heilmittel erst auf grosse Entfernungen mit einem Zeitverlust von mindestens 36 Stunden von der Productionsstätte kommen lassen müsste!

Man darf nicht einwenden, dass bei der Analyse serum-therapeutischer Tetanusstatistiken die alsbald nach dem Auftreten tetanischer Symptome behandelten Fälle zuweilen eine höhere Sterblichkeitsziffer zeigen, wie diejenigen, bei welchen erst 24, 48 Stunden und noch längere Zeit nach dem Tetanusausbruch mit der Serumbehandlung begonnen wurde. Wer angesichts eines solchen statistischen Ergebnisses schliessen wollte, dass eine frühzeitige Serumbehandlung weniger leistet, wie eine spät einsetzende, der würde einem groben Denkfehler zum Opfer fallen. Bei einer solchen Argumentation wird nämlich die Thatsache nicht berücksichtigt, dass die Prognose der einzelnen Tetanusfälle von vielen Factoren abhängig ist: ausser von der individuellen Empfänglichkeit, wobei Alter und derzeitiger physiologischer Zustand eine wichtige Rolle spielen, insbesondere von der Virulenz des Infectionsstoffes, von der Menge des importirten Virus, von dem Infectionsort und von der Art der die Infection ermöglichenden Läsion. Je bösartiger die In-

1) **Curschmann** citirt insbesondere **Larrey**, „Mémoires sur le Tetanos traumatique", Paris 1812—1817. — **Poland**, „Guy's Hosp. Rep.", 3. Ser., Vol. III. — **Richter**, „Chirurgie der Schussverletzungen", Breslau 1879 (717 Fälle mit 88 pCt. Letalität, von **Rose** nicht erwähnt)

fection ist, um so kürzer pflegt die Incubationsdauer zu sein, um so rapider schreitet die tetanische Erkrankung vorwärts, um so mehr charakteristisch sind gleich die ersten Krankheitssymptome, um so eher wird man sich entschliessen, das Tetanusheilserum anzuwenden. Nun ist aber der serumtherapeutische Erfolg nicht bloss abhängig von der Bösartigkeit der Infection. Wer unter Berücksichtigung aller dieser experimentell sicher gestellten Thatsachen die serumtherapeutischen Ergebnisse in genau beobachteten Einzelfällen analysirt, der wird zweifellos gleich mir zu der Schlussfolgerung gelangen, dass nicht bloss durch einen Zeitverlust von Tagen, sondern schon von Stunden die Heilungschance verringert wird, — eine Schlussfolgerung, welche aus einwandsfrei augestellten Thierexperimenten sich mit apodiktischer Gewissheit ergiebt.

Im willkürlich angestellten Thierexperiment kann man beweisen, dass das Zeitmoment in der antitoxischen Therapie beim Tetanus für den Heilerfolg noch mehr ausschlaggebend ist, wie bei der Diphtherie.

NEUE MITTHEILUNGEN

ÜBER

RINDERTUBERCULOSEBEKÄMPFUNG.

VON

DR. MED. **PAUL H. RÖMER,**
PRIVATDOCENT UND VORSTEHER DER ABTHEILUNG FÜR EXPERIMENTELLE THERAPIE
DES INSTITUTS FÜR HYGIENE UND EXPERIMENTELLE THERAPIE DER
UNIVERSITÄT MARBURG.

MIT 33 TAFELN.

BERLIN 1904.
VERLAG VON AUGUST HIRSCHWALD.
NW. UNTER DEN LINDEN 68.

Alphabetisch geordnete Erklärung der Abkürzungen und Zeichen.

B. K. = Bouillon-Kultur.
Gl.-Ag.-K. = Glycerin-Agar-Kultur.
H. = Huhn.
H.-Tb. = vom Huhn stammende Tuberkelbacillen.
Hustet = geringer Husten.
Hustet = mässiger Husten.
Hustet = sehr starker Husten.
io = intraocular (Impfung in die vordere Augenkammer).
iv = intravenös.
M = Meerschwein.
Msch. = Mensch.
Msch.-Tb. = vom Menschen stammende Tuberkelbacillen.
Rd. = Rind.
Rd.-Tb. = vom Rinde stammende Tuberkelbacillen.
S. K. = Serum-Kultur.
sk. = subcutan.
Tb. = Tuberkelbacillen.
Tub. = Tuberkulin in Trockenform.
Tub. a = Tuberkulin in flüssiger Form.
Vac.-Tb. = im Vacuum getrocknete Tb. (= Trocken-Tb.)

Neue Mittheilungen über Rindertuberculose-bekämpfung.

Von

Privatdocent Dr. **Paul H. Römer.**

1. Schicksale früher beschriebener, immunisirter Rinder.

Zunächst soll das Schicksal derjenigen Rinder mitgetheilt werden, deren Protokolle seiner Zeit im Heft 5 der Beiträge zur experimentellen Therapie veröffentlicht worden sind, und deren Geschichte uns zuerst den einwandsfreien Beweis für die Möglichkeit lieferte, Rindern eine solche Widerstandsfähigkeit gegen Tuberculose zu verleihen, dass sie für nicht vorbehandelte Controlrinder rasch tödtliche Dosen des Tuberkulosevirus ohne Schaden vertragen.

Schon in dem erwähnten Heft 5 der „Beiträge“ war der Sectionsbefund eines Rindes (No. 16) mitgetheilt worden, der zeigte, dass eine solche intravenöse Infection mit hochvirulenter Rb.-Tb.-Cultur für dieses Rind unschädlich gewesen war, welche Controlrinder in 4 Wochen an ausgedehnter Miliartuberculose aller Organe tödtete. Gleichzeitig lieferte uns aber der Sectionsbefund dieses Rindes den Beweis, dass auch schwach-virulente Rb.-Tb. zur Immunisirung der Rinder practisch deshalb nicht brauchbar sind, weil sie beim Rinde Herderkrankungen zurücklassen. Wenn auch zuweilen diese Herderkrankungen heilbar und vollkommener Rückbildung fähig sind, so können sie doch unter besonderen Umständen zu ernsteren Gesundheitsstörungen Anlass geben. Beim Rind 16 hatte die erste Infection, welche mit einer vom Rinde stammenden schwach virulenten Cultur erfolgte, tuberculöse Herde im Körper zurückgelassen, zugleich aber auch eine Immunität gegen die schwersten Infectionen. Unsere Vermuthung, dass auf Rb.-Tb. zurückzuführende Herderkrankungen eine vollkommene Ausheilung nicht ausschliessen, hat sich bei der Section des Rindes 8 bestätigt, dessen Protokoll ebenfalls in extenso im Heft 5 der Beiträge mitgetheilt ist. Dieses Rind hatte wiederholte Infectionen mit sehr starkem Tuberculosevirus anstandslos vertragen, während sämmtliche Controlthiere in kurzer Zeit an Miliartuberculose verendet waren. Das Rind wurde dann noch monatelang in einem stark tuberculose-durchseuchten Stall zusammen mit hustenden Rindern eingestellt und im October 1902 in bestem Ernährungszustand zu diagnostischen Zwecken getödtet. Von den zahlreichen In-

fectionen mit grossen Dosen virulenter Tb. waren ganz vereinzelte Lungenknoten zurückgeblieben, die vollkommen verödet waren. Sie waren umgeben von einer derben fibrösen Hülle und standen mit dem Lungengewebe selbst nicht mehr in Verbindung, da sie ohne Verletzung des Gewebes leicht aus ihrer Umgebung herausgehoben werden konnten, sich also wie harmlose Fremdkörper verhielten. Dass sie in der That als vollkommen inactiv anzusehen waren, wurde durch die noch ante mortem festgestellte Tuberculinunempfindlichkeit dieses Rindes wahrscheinlich gemacht. Mit Recht konnte das Protokoll dieses Thieres den Theilnehmern der internationalen Tuberculose-Conferenz, welche nach Abschluss ihrer Verhandlungen im October 1902 einen Abstecher nach Marburg machten, als ein beweiskräftiges Beispiel einer hohen willkürlich erzeugten Immunität gegen das Tuberculosevirus demonstrirt werden.

Ein ebenso beweiskräftiges Beispiel einer solchen Immunität ist die Geschichte des Rindes No. 11, bezüglich dessen Protokoll ich wiederum auf das Heft 5 der Beiträge verweise. Das Schicksal dieses Rindes ist deshalb ganz besonders bedeutungsvoll, weil es, abgesehen von seiner gegen sehr grosse Dosen intravenös applicirter rindvirulenter Tb. erwiesenen Immunität, sich auch gegen eine intraoculare Impfung mit vom Rinde stammender Cultur widerstandsfähig gezeigt hatte, also gegenüber einer Infectionsmethode, mittels der Rinder ganz besonders leicht zu inficiren sind. Das Rind wurde, nachdem es noch lange Zeit zwischen tuberculösen, hustenden Rindern gestanden hatte, in sehr gutem Ernährungszustande Mitte Januar 1903 getödtet. Es erwies sich vollkommen frei von Tuberculose. Ueber dem Unterlappen der linken Lunge fand sich auf der Pleura pulmonalis eine geringe bindegewebige Excrescenz, die sich, mikroskopisch, culturell und thierexperimentell geprüft, frei von Tuberkelbacillen erwies. Dieser Sectionsbefund ist auch deshalb noch bemerkenswerth, weil, wie aus dem Protokoll des Rindes hervorgeht, die erste Infection mit einem tuberculösen Rindorgan (Drüsenstück) erfolgt war. Es hatte also diese Infection keine bleibenden Herde im Rinderkörper erzeugt und die principielle Geeignetheit auch des Rindertuberculosevirus als Schutzimpfstoff gegen die Tuberculose in diesem besonderen Fall erwiesen. Anderweitige Erfahrungen haben uns aber gelehrt, dass wir Rd-Tb. systematisch zum Zweck einer Erstimpfung nicht anwenden dürfen, da wir niemals die Garantie der Unschädlichkeit in diesem Falle übernehmen können. Ein Beispiel für die Berechtigung dieser Anschauung ist u. a. das Rind No. 10, dessen Protokoll ebenfalls im Heft 5 der Beiträge mitgetheilt ist: dieses Rind hatte sich zwar, dank der subcutanen Vorbehandlung mit schwach virulenten Rd-Tb., gegen mehrfache schwere experimentelle Infectionen, die für Controlrinder tödtlich gewesen waren, widerstandsfähig erwiesen. Die Vorbehandlung mit vom Rinde stammender Cultur, dazu noch in nicht kleiner Dosis (0,01 g), hatte aber doch, wie uns die Section zeigte, welche im September 1902 ausgeführt wurde, nicht unbedeutende Organveränderungen, insbesondere zahlreiche Herde in den Lungen zurückgelassen.

Die Erfahrung, dass sich Rd.-Tb. auch in kleiner Dosis und in abgeschwächter Form praktisch nicht zur Schutzimpfung eignen, zeigte uns auch der Sectionsbefund der Rinder No. 17 und 20. Rind 17 wurde

im August 1902 getödtet und wies recht bedenkliche Residuen der intravenösen Erstinfection mit einem Rindertuberculosevirus auf; und beim Rind 20, secirt im November 1902, waren fibröse, in beginnender Verkalkung befindliche Herde zurückgeblieben. Das Thier war übrigens noch längere Zeit in einem stark mit Tuberculose durchseuchten Stall untergebracht gewesen und wurde wegen einer Verletzung am rechten Vorderbein geschlachtet. Irgendwelche Anzeichen einer spontanen frischen Infection fanden sich aber ebensowenig wie Residuen der letzten schweren Infection, der das Controlrind in 3 Wochen erlegen war.

Ueber die weiteren Schicksale des ebenfalls noch im Heft 5 geschilderten Rindes No. 9, das sich noch am Leben befindet, soll weiter unten berichtet werden.

2. Neue Immunisirungsexperimente.

Den Berichten über die Schicksale der früher im Heft 5 der Beiträge zur experimentellen Therapie beschriebenen Rinder lasse ich die Protokolle einiger Rinder folgen, welche z. Th. schon im Heft 6 der Beiträge (Römer, Tuberkelbacillenstämme) veröffentlicht sind und weitere experimentelle Beläge für die Wirksamkeit unseres Immunisirungsverfahrens darstellen. Die genauen Temperaturcurven dieser Rinder, in denen nach der bei uns üblichen Weise auch die Gewichtsbestimmungen und therapeutischen Eingriffe eingetragen sind, folgen am Schluss der Arbeit.

Rind 25 (s. Tafel 1 des Anlageheftes) verdankt seine hohe Immunität, welche es gegen Dosen von Rd-Tb. und H.-Tb. geschützt hat, die für Controlrinder ein vielfaches der in 4 bis 6 Wochen tödtlichen Dosis darstellen, im Wesentlichen einer Erstinfection mit einer grossen Dosis Tb. 6, einer seinerzeit frisch vom Menschen gezüchteten Cultur. Die Fiebercurve dieses Thieres ist zugleich ein gutes Beispiel für die auch sonst von uns gemachte Erfahrung, dass durchaus nicht jede vom Menschen stammende Cultur sich zur Benutzung als Schutzimpfstoff in der Praxis eignet. Erkrankte doch Rind 25 nach der Erstinfection mit Tb. 6 so heftig, dass die Prognose quoad vitam zeitweilig recht ungünstig gestellt werden musste. Solche Schutzimpfungen können, so erfolgreich sie auch schliesslich sich erweisen, in die Praxis unmöglich eingeführt werden. Auch andere Culturen menschlicher Abstammung erwiesen sich in dieser Hinsicht als ungeeignet. Ich verweise u. a. auf das im Heft 5 der Beiträge mitgetheilte Protokoll des Rindes 22, welches nach Infection mit Tb. 5 (Mch.-Tb.) schliesslich zu Grunde ging. Ausserdem ist durch zahlreiche Forscher nunmehr sichergestellt, dass durchaus nicht jede vom Menschen stammende Cultur für das Rind unschädlich ist. Wir kommen auf die Frage der Geeignetheit einer Cultur zu praktischen Immunisirungszwecken noch weiter unten zurück. Das erwähnte Rind 25 beweist übrigens, wie aus dem Protokoll ersichtlich ist, dass mit einer Immunität gegen Rd.-Tb. auch eine grössere Widerstandsfähigkeit gegen H.-Tb. (Hühner-Tuberkelbacillen) Hand in Hand geht, ist also ein Beweis für das Bestehen einer wechselseitigen Immunität zwischen Mch.-Tb., Rd.-Tb. und H.-Tb. Die durch die Infection mit Tb. 6 geschaffene Grundimmunität des Rindes 25 ist jedenfalls durch

fection ist, um so kürzer pflegt die Incubationsdauer zu sein, um so rapider schreitet die tetanische Erkrankung vorwärts, um so mehr charakteristisch sind gleich die ersten Krankheitssymptome, um so eher wird man sich entschliessen, das Tetanusheilserum anzuwenden. Nun ist aber der serumtherapeutische Erfolg nicht bloss abhängig von der Bösartigkeit der Infection. Wer unter Berücksichtigung aller dieser experimentell sicher gestellten Thatsachen die serumtherapeutischen Ergebnisse in genau beobachteten Einzelfällen analysirt, der wird zweifellos gleich mir zu der Schlussfolgerung gelangen, dass nicht bloss durch einen Zeitverlust von Tagen, sondern schon von Stunden die Heilungschance verringert wird, — eine Schlussfolgerung, welche aus einwandsfrei angestellten Thierexperimenten sich mit apodiktischer Gewissheit ergiebt.

Im willkürlich angestellten Thierexperiment kann man beweisen, dass das Zeitmoment in der antitoxischen Therapie beim Tetanus für den Heilerfolg noch mehr ausschlaggebend ist, wie bei der Diphtherie

---

NEUE MITTHEILUNGEN

ÜBER

RINDERTUBERCULOSEBEKÄMPFUNG.

VON

DR. MED. **PAUL H. RÖMER,**
PRIVATDOCENT UND VORSTEHER DER ABTHEILUNG FÜR EXPERIMENTELLE THERAPIE
DES INSTITUTS FÜR HYGIENE UND EXPERIMENTELLE THERAPIE DER
UNIVERSITÄT MARBURG.

MIT 33 TAFELN.

BERLIN 1904.
VERLAG VON AUGUST HIRSCHWALD.
NW. UNTER DEN LINDEN 68.

Alphabetisch geordnete Erklärung der Abkürzungen und Zeichen.

B. K. = Bouillon-Kultur.
Gl.-Ag.-K. = Glycerin-Agar-Kultur.
H. = Huhn.
H.-Tb. = vom Huhn stammende Tuberkelbacillen.
Hustet = geringer Husten.
Hustet = mässiger Husten.
Hustet = sehr starker Husten.
io = intraocular (Impfung in die vordere Augenkammer).
iv = intravenös.
M = Meerschwein.
Msch. = Mensch.
Msch.-Tb. = vom Menschen stammende Tuberkelbacillen.
Rd. = Rind.
Rd.-Tb. = vom Rinde stammende Tuberkelbacillen.
S. K. = Serum-Kultur.
sk. = subcutan.
Tb. = Tuberkelbacillen.
Tub. = Tuberkulin in Trockenform.
Tub. a = Tuberkulin in flüssiger Form.
Vac.-Tb. = im Vacuum getrocknete Tb. (= Trocken-Tb.)

Neue Mittheilungen über Rindertuberculose-bekämpfung.

Von

Privatdocent Dr. **Paul H. Römer.**

1. Schicksale früher beschriebener, immunisirter Rinder.

Zunächst soll das Schicksal derjenigen Rinder mitgetheilt werden, deren Protokolle seiner Zeit im Heft 5 der Beiträge zur experimentellen Therapie veröffentlicht worden sind, und deren Geschichte uns zuerst den einwandsfreien Beweis für die Möglichkeit lieferte, Rindern eine solche Widerstandsfähigkeit gegen Tuberculose zu verleihen, dass sie für nicht vorbehandelte Controlrinder rasch tödtliche Dosen des Tuberkulosevirus ohne Schaden vertragen.

Schon in dem erwähnten Heft 5 der „Beiträge“ war der Sectionsbefund eines Rindes (No. 16) mitgetheilt worden, der zeigte, dass eine solche intravenöse Infection mit hochvirulenter Rb.-Tb.-Cultur für dieses Rind unschädlich gewesen war, welche Controlrinder in 4 Wochen an ausgedehnter Miliartuberculose aller Organe tödtete. Gleichzeitig lieferte uns aber der Sectionsbefund dieses Rindes den Beweis, dass auch schwach-virulente Rb.-Tb. zur Immunisirung der Rinder practisch deshalb nicht brauchbar sind, weil sie beim Rinde Herderkrankungen zurücklassen. Wenn auch zuweilen diese Herderkrankungen heilbar und vollkommener Rückbildung fähig sind, so können sie doch unter besonderen Umständen zu ernsteren Gesundheitsstörungen Anlass geben. Beim Rind 16 hatte die erste Infection, welche mit einer vom Rinde stammenden schwach virulenten Cultur erfolgte, tuberculöse Herde im Körper zurückgelassen, zugleich aber auch eine Immunität gegen die schwersten Infectionen. Unsere Vermuthung, dass auf Rb.-Tb. zurückzuführende Herderkrankungen eine vollkommene Ausheilung nicht ausschliessen, hat sich bei der Section des Rindes 8 bestätigt, dessen Protokoll ebenfalls in extenso im Heft 5 der Beiträge mitgetheilt ist. Dieses Rind hatte wiederholte Infectionen mit sehr starkem Tuberculosevirus anstandslos vertragen, während sämmtliche Controlthiere in kurzer Zeit an Miliartuberculose verendet waren. Das Rind wurde dann noch monatelang in einem stark tuberculose-durchseuchten Stall zusammen mit hustenden Rindern eingestellt und im October 1902 in bestem Ernährungszustand zu diagnostischen Zwecken getödtet. Von den zahlreichen In-

cultur intravenös bekam, unter No. IV über ein Kalb, welches von einer tuberculösen Kuh abstammte und im Alter von 3 Wochen intraoculär geimpft wurde. Diese Kälber wurden nach mehr oder weniger ausgesprochenem Kranksein wieder ganz gesund, soweit das klinisch festgestellt werden konnte. Kalb I hatte aber bei der 8 Monate später erfolgten Section in den Lungenspitzen einige kleine verkäste Tuberkel mit positivem Bacillenbefund, und es ist sehr wahrscheinlich, dass diese Tuberkel auf die importirten menschlichen Tuberkelbacillen (Msch.-Tb.) zurückzuführen sind. Kalb III zeigte bei der Tödtung nach $9^{1}/_{2}$ Monaten vollkommen verkalkte bacillenfreie Tuberkel; bei Kalb IV ging der inficirte Bulbus phthisisch zu Grunde und bei der $8^{1}/_{2}$ Monate später ausgeführten Section fanden sich Tuberkelbacillen in einer käsigen Masse, welche in der hinteren Augenkammer des etwa um die Hälfte verkleinerten Bulbus lag und mit Kalkpartikeln durchsetzt war; auch in einer retropharyngealen Lymphdrüse wurden Bacillen nachgewiesen.

Ein 8 Wochen altes Kalb (No. II) wurde intravenös inficirt mit einer Tuberkelbacillencultur, welche von Nocard aus dem Euter einer tuberculösen Kuh herausgezüchtet worden war. Es erhielt davon 0,03 Grm. und ging nach 20 Tagen an ausgedehnter Miliartuberculose der Lungen zu Grunde. Ein anderes 12 Tage altes Kalb (No. V) erhielt 0,008 Grm. von einer durch Nocard aus tuberculöser Rinderleber gewonnenen Cultur, wurde danach schwer krank und verfiel langsamem Siechthum. Es wurde 9 Wochen nach der Infection getödtet, nachdem es noch 9 Tage vorher eine grössere Dosis (0,03 Grm.) von der Lebercultur bekommen hatte. Die Section ergab Miliartuberculose der Lungen mit für Meerschweine virulenten Tuberkelbacillen und tuberculöse Bronchialdrüsen. Beide Rindertuberculoseculturen erwiesen sich demnach als virulent für Rinder, aber die Eutercultur war vielleicht stärker virulent als die Lebercultur.

Nach dem Verschwinden aller Krankheitserscheinungen bei den mit Msch.-Tb. inficirten Kälbern No. I, III und IV wurden No. I mit 0,04 g Eutercultur, No. III zuerst mit 0,04 g Eutercultur und dann noch mehrere Monate später mit Lebercultur intravenös inficirt; nur bei Kalb No. IV hatte die Infection mit Rindertuberculosevirus vorübergehend Husten und Athemnoth zur Folge. No. I und III bekamen keinen Husten und verloren auch kaum die Fresslust.

Die oben citirten Sectionsbefunde bewiesen dann schliesslich, dass schon durch die einmalige Vorbehandlung mit menschlichen Tuberkelbacillen der Organismus sämmtlicher Kälber die Fähigkeit verloren hatte, mit Tuberkelbildung zu reagiren auf den Import von solchen Quantitäten eines Rindertuberculosevirus, welche bei Controlrindern in kurzer Zeit den Tod an Miliartuberculose herbeiführen.

Eine weitere ganz besonders werthvolle Bestätigung unserer schon vor 2 Jahren gemachten Angaben brachten vor kurzem Mittheilungen über Immunisirung gegen Tuberculose aus dem Berliner Koch'schen Institute durch Koch's Schüler Neufeld. Sie bringen zwar keine Versuchsprotokolle zum Beweis einer gelungenen Rinderimmunisirung — die durch Mittheilung der Protokolle geschilderten Versuche beziehen sich nur auf Ziegen und Esel — stimmen aber im Uebrigen mit den früher aus dem hiesigen Institut mitgetheilten Versuchsergebnissen derart über-

ein, dass es sich wohl erübrigt, noch weitere protokollarische Beweise für die **genügende experimentelle Begründung unseres Schutzimpfungsverfahrens** anzuführen.

Auf einen Gegenstand möchte ich aber noch zurückkommen, den ich bereits oben streifte. Ich erwähnte, dass man durch Vorbehandlung der Rinder mit Msch-Tb. nicht nur eine Immunität gegen Rd-Tb., sondern auch gegen H-Tb. erreicht, dass also eine wechselseitige Immunität besteht in dem Sinne, dass ein mit Rd-Tb. vorbehandeltes Individuum gegen Rd- und H-Tb. immun ist und dass umgekehrt ein mit Msch-Tb. immunisirtes Thier auch gegen die Infection mit Rd-Tb. und H-Tb. sich widerstandsfähiger erweist. Daher lag der Gedanke nahe, die Immunisirung der Rinder statt mit Msch-Tb. mit H-Tb. vorzunehmen. Es schien uns anfangs, als ob man mit den leichter resorptionsfähigen H-Tb. noch besser immunisiren könne, als mit den Säugethier-Tb. Indess stellte sich, zumal wenn wir die H-Tb. intravenös injicirten, heraus, dass unter dieser Vorbehandlung eine sehr starke und zugleich schwer berechenbare Ueberempfindlichkeit der Rinder gegen H-Tb. eintritt. Wir haben daher dieses Verfahren der Immunisirung als zu gefährlich und für die Praxis nicht anwendbar wieder verlassen. Den plötzlichen und unerwarteten Eintritt einer solchen Ueberempfindlichkeit demonstriren am besten die Protokolle der Rinder 59 und 49 (Tafel 8 des Anlageheftes); insbesondere das Protokoll von Rd 49 ist in dem Sinn des Eintritts einer enormen Ueberempfindlichkeit auch gegenüber der stets gleichen H-Tb.-Dosis sehr instructiv. Als wir noch einige wegen ihrer Vorgeschichte besonders werthvolle Thiere durch diese Behandlungsmethode verloren hatten, gaben wir die Experimente vorläufig auf. Wie diese auffallende Ueberempfindlichkeit zu erklären ist, können wir nicht mit Sicherheit sagen; vielleicht hängt sie zusammen mit einer leichteren Resorptionsfähigkeit des H-Tb.-Protoplasma, so dass in kürzerem Zeitraum von den intravenös injicierten H-Tb. lebenswichtige Organe viel intensiver angegriffen werden als nach der intravenösen Injection der gleichen Dosis Rd-Tb. und Msch-Tb. Für diese Interpretation spricht auch die Thatsache, dass wir mit den Tb. Arloing (22) ähnliche Erfahrungen gemacht haben wie mit den H-Tb.

5. Schema für die Schutzimpfungen in der landwirthschaftlichen Praxis.

A. Organisation des Schutzimpfungsverfahrens.

Für die Schutzimpfungen, die wir in der Praxis ausführen, benutzen wir ausschliesslich Msch-Tb. in Gestalt unserer seit Jahren studirten Cultur No. 1, welche im Heft 5 und Heft 6 der Beiträge in ihren Eigenschaften genau charakterisirt ist. — Die grosse Häufung der Impfstoffbestellungen einerseits, die zahlreichen experimentellen Arbeiten im hiesigen Institut anderseits zwangen uns, von der technischen Arbeit der Impfstoffdarstellung, Abwägung und Versendung die wissenschaftlichen Mitarbeiter am Institut zu entlasten und den Versand des Impfstoffs der hiesigen Firma Dr. Siebert und Dr. Ziegenbein zu übergeben. Die Prüfung des Impfstoffs (auf Reinheit, Virulenz etc.) findet aber nach wie vor in der wissenschaftlichen Abtheilung unseres Instituts statt.

Den abzusendenden Impfstoffdosen wird eine Gebrauchsanweisung beigegeben, welche früher schon in der Zeitschrift für Thiermedicin veröffentlicht ist. Wir lassen dieselbe hier noch einmal folgen wegen einiger redactioneller Abänderungen, welche dieselbe erfahren hat. Der sachliche Inhalt unserer Instruction für die Handhabung der Rinderimmunisirungen ist von da ab, wo wir unser Jennerisirungsverfahren in die landwirthschaftliche Praxis übertragen haben, unverändert geblieben.

Anweisung für die Ausführung der Tuberculose-Schutzimpfungen von Rindern.

I. Auswahl der zu impfenden Rinder.

Der Schutzimpfung sind in der Regel nur Thiere ohne äussere Krankheitserscheinungen im Alter von 3 Wochen bis zu 4 Monaten (bei der ersten Impfung) zu unterziehen. Bei gesunden Rindern in diesem Alter braucht es einer vor der Impfung vorzunehmenden Tuberculinprobe nicht und zwar auch dann nicht, wenn die Thiere einem notorisch an Tuberculose verseuchten Bestand angehören.

Ausnahmsweise können auch ältere Rinder und zwar solche im Alter von 4 Monaten bis zu 2 Jahren der Schutzimpfung unterworfen werden, jedoch nur dann, wenn die Thiere vollständig frei von Krankheitserscheinungen sind und wenn eine vorher vorzunehmende Tuberculinprobe vollständig reactionslos verläuft. Vor der Schutzimpfung sollen die Thiere zwei Tage im Stall gehalten werden, während welcher Zeit Morgens und Abends die Temperatur gemessen wird.

II. Nummerirung der geimpften Rinder.

Jedes geimpfte Rind wird durch eine laufende Nummer gekennzeichnet. Die Zeichnung hat derart zu erfolgen, dass sie deutlich ist, zu Irrthümern und Verwechslungen keinen Anlass geben kann, und während der ganzen Lebensdauer des betreffenden Thieres erhalten bleibt. (Ohrmarkenverfahren, Tätowirung etc.)

III. Protokollführung.

S. unter „Bedingungen für die Impfstoffabgabe etc.“ Punkt 3.

IV. Technik der Temperaturmessung.

Die Feststellung der Körpertemperatur geschieht mit einem Maximalthermometer, welches vollständig in den After versenkt werden kann. Vor der Einführung des Thermometers sind nöthigenfalls feste Kothmassen aus dem unteren Mastdarmende zu entfernen.

Um den Hals des am oberen Ende des Thermometers vorhandenen Knopfes befestige man ein ca. 30 Cm. langes dünnes Band, an dessen anderem Ende eine Klemme (Thermometer-Fixateur) angebracht ist. Nach Einführung des Thermometers setze man diese Klemme auf die Schwanzhaare des Rindes und zwar in der Gegend der Schwanzwurzel auf. Das Thermometer bleibt etwa 4 Minuten liegen. Zum Zweck der Zeitersparniss legt man gleich einer grösseren Zahl von Rindern (etwa 6) die Thermometer hintereinander ein. Nach Einführung des letzten

Thermometers pflegt es dann zur Herausnahme des ersten Zeit zu sein, den man nach Ablesen der Temperatur und Herunterschleudern der Quecksilbersäule dem 7. Rind einlegt, worauf man den 2. Thermometer herausnimmt, dem 8. Rind einführt u. s. w. Es gelingt auf diese Weise, die Temperatur von 50 Rindern in $1^1/_2$ bis 2 Stunden einwandsfrei festzustellen.

V. Der Impfstoff.

Der Impfstoff besteht aus lebenden Tuberkelbacillen, welche im Marburger Institut für experimentelle Therapie in ihrer Wirkung auf Rinder genau geprüft sind. Die Tuberkelbacillen sind in Trockenform übergeführt, ohne ihre Lebensfähigkeit eingebüsst zu haben. Diese Trocken-Tuberkelbacillen (Trocken-Tb.) bleiben in geschlossenen Glasröhren während einer Zeitdauer von 30 Tagen in ihrer Wirkung auf Rinder unbeeinträchtigt. Wenn daher eine Glasröhre mit Tb. beispielsweise das Datum „1. VII. 02" trägt, so kann der Inhalt bis zum 1. VIII. 02 zur Rinderimmunisirung unbedenklich benutzt werden. Nach längerer Zeit als nach 30 Tagen ist der Immunisirungswerth des Inhalts zwar nicht aufgehoben, aber doch soweit verringert, dass die im Folgenden angegebene Dosirung auf ihn nicht mehr Anwendung findet.

VI. Dosirung des Impfstoffs.

Zur Erstimpfung ist anzuwenden je 1 I.-E. pro Kalb, für die Zweitimpfung, welche frühestens 12 Wochen nach der Erstimpfung stattfinden soll, je 5 I.-E. — Die Dosis von 1 I.-E. ist in der Regel in 0,004 Grm. Trocken-Tb., die für die Zweitimpfung anzuwendende Dosis von 5 I.-E. also in 0,02 Grm. Trocken-Tb. enthalten.

Ist in dem Röhrchen nun die für die Erstimpfung von 20 Rindern erforderliche Quantität vorhanden, so trägt das Glasröhrchen den Vermerk 20 I.-E. (Immunisirungs-Einheiten). Um jeder Zeit die Gewinnungsweise der zur Versendung gelangten Tb. controliren zu können, trägt jedes Röhrchen ausserdem eine in römischen Zahlen fortlaufende Operationsnummer:

Op.-Nr. I. 20 I.-E. 1. VII. 02.

Dieses Etikett ist demnach zu lesen: Trocken-Tb., welche in dem Marburger Präparatenverzeichniss die Operationsnummer I haben, enthalten am Tage der Ausgabe, also am 1. VII. 02. 20 I.-E. und behalten diesen Wert bis zum I. VIII. 02.

Zum Zweck der Einspritzung wird der Impfstoff in frisch aufgekochter und hinterher wieder abgekühlter 1 proc. Kochsalzlösung gleichmässig vertheilt, was nach folgender Vorschrift geschieht.

Der ganze Röhrcheninhalt wird in einer Reibschale mit dem Pistill zunächst in trockenem Zustand zerkleinert und nach Zusatz von 2 bis 3 Ccm. Kochsalzlösung zu einer gleichmässigen Emulsion verrieben. Diese Emulsion wird in einen 50 Ccm. fassenden Messcylinder gegossen. Hierauf werden etwaige in der Reibschale zurückgebliebene Reste der Emulsion von Neuem fein zerrieben, in Kochsalzlösung aufgeschwemmt und in den Messcylinder gegossen. Die Flüssigkeitsmenge im Messcylinder wird dann auf 30 Ccm. aufgefüllt und der gesammte Inhalt des Messcylinders in eine sterilisirte, 100 Ccm. fassende Flasche mit weitem

Hals umgegossen. Die Reste der Emulsion in dem Messcylinder werden schliesslich mit 10 Ccm. Kochsalzlösung aufgenommen und den 30 Ccm. Tb.-Emulsion in der Flasche zugefügt. Die Flasche enthält dann den zur Injection fertigen Impfstoff, von welchem 2 Ccm. die für die Erstimpfung eines Rindes anzuwendende Immunisirungsdosis enthalten, wenn in den Röhrchen 20 I.-E. vorhanden waren. Die Dosis für die Zweitimpfung wäre in diesem Fall in 10 Ccm. enthalten.

VII. Instrumentenkasten.

Zur Ausführung der Impfungen in der landwirthschaftlichen Praxis empfiehlt sich die Benutzung eines von der Firma W. Holzhauer in Marburg zusammengestellten Instrumentenkastens. Derselbe enthält:

a) 2 Flaschen zu je 100 Ccm. aus gefärbtem Glas für den Impfstoff;
b) 1 Flasche mit Lysol;
c) 1 Flasche mit Spiritus;
d) 1 Erlenmeyer'sches Kölbchen (für 1 proc. Kochsalzlösung);
e) 1 Reibschale mit Pistill;
f) 1 Messcylinder zu 50 Ccm.;
g) 1 Messcylinder zu 10 Ccm.;
h) 1 Schale zur Aufnahme desinficirender Flüssigkeiten;
i) 6 Thermometer mit den zugehörigen Fixateuren und Bändern (Preis 10,50 Mk., pro Stück 1,75 Mk.);
k) 2 Impfspritzen mit je 2 starken Canülen (Preis 11 Mk.);
l) 1 kleine Handwage mit Gewichtssatz;
m) 1 Spiritusbrenner mit Deckel;
n) Sterilisirte Watte;
o) 1 zwischen Deckel und Kasten eingeschalteter Drahtkorb.

Der ganze Kasten ist mit einem Segeltuchüberzuge und einem ledernen Halter versehen. Am Deckel befinden sich 4 verschiebbare Füsse, auf welchen der vom Kasten abgehobene Deckel wie ein Kochtopf aufgerichtet und als Desinfectionsapparat benutzt werden kann. Zu diesem Zweck wird der in dem Kasten befindliche Drahtkorb mit den zu desinficirenden Gefässen und Instrumenten beschickt und in den mit 2 proc. Lysollösung zur Hälfte gefüllten Topf eingelassen. Man stellt dann den Spiritusbrenner unter den Topf, zündet ihn an und erhitzt die Desinfectionsflüssigkeit so lange, bis sie eben zu sieden anfängt. Danach wird die Spiritusflamme durch Aufsetzen des beigegebenen Deckels ausgelöscht. — Der Preis des completen Kastens beträgt 85 Mk. Der Kasten kann auch ohne Thermometer und Impfspritzen bezogen werden. Der Preis verringert sich dann auf 63,50 Mk.

VIII. Ausführung der intravenösen Einspritzung.

Zur Ausführung der Schutzimpfung benutzt man am besten eine 5 Ccm. fassende Asbeststempelspritze, welche vor dem Gebrauch durch mehrmaliges Ausspritzen mit 2 proc. Lysollösung und hierauf durch wiederholtes Nachspülen mit Kochsalz zu reinigen ist. Die auf die Spritze aufgesetzte Canüle ist äusserlich ebenfalls mit Lysollösung abzureiben. Hierauf saugt man eine I.-E. von der fertigen Tb.-Emulsion ein; Luftblasen in der Spritze sind vor der Einspritzung über der sub h

genannten Schale auszublasen, wobei darauf zu achten ist, dass mitausfliessende Tropfen der Emulsion nicht auf den Boden des Stalles, sondern in die Schale fallen. Die mit dem Impfstoff gefüllte Spritze wird bis zu dem Zeitpunkt der Einspritzung auf die schon mehrfach erwähnte Schale gelegt, ebenso die nunmehr von der Spritze abzunehmende Canüle.

Der Impfstoff wird in die linke Vena jugularis eingespritzt. Es empfiehlt sich, die Einspritzung, wenn irgend möglich, an dem Standort des Thieres selbst vorzunehmen, um eine unnöthige Beunruhigung der Rinder zu vermeiden. Nach Abwaschen der linken Halsseite mit 2proc. Lysollösung bringt der Operateur durch Zusammendrücken mit dem Daumen der linken Hand das Blut in der Vena jugularis zum Stehen, was sich durch eine deutliche, wurstförmige, beim Fingerdruck fluctuirende Schwellung bemerkbar macht. Nun nimmt der Operateur die Canüle von der in leicht erreichbarer Nähe bereitgestellten Schale mit der rechten Hand (während seine linke Hand ununterbrochen die Vena jugularis zugedrückt hält) und sticht sie dicht oberhalb des comprimirenden Daumens der linken Hand in einem Winkel von etwa 45° schräg von unten nach oben in die Vene ein. An dem Ausfliessen eines gleichmässigen kräftigen Blutstroms aus dem Lumen der Canüle erkennt man, dass sie sich in der Vene befindet. Tritt kein Blut aus, so ist die Vene noch nicht angestochen. Ohne die Canüle wieder ganz herauszuziehen, sticht man dann von Neuem in die fluctuirende Anschwellung hinein. Sobald das Blut reichlich ausfliesst, hört die linke Hand mit dem Zusammendrücken der Vene auf und hält jetzt die Canüle fest, während die rechte Hand die Spritze von der Schale aufnimmt, sie auf die Canüle gut schliessend aufsetzt und den Impfstoff langsam und gleichmässig in die Vene hineindrückt. Nach vollständiger Entleerung der Spritze drückt man mit dem Daumen der linken Hand die Haut an der Einstichstelle zusammen, worauf nach dem Herausziehen der auf der Spritze befestigten Canüle die Blutung in der Regel sofort zum Stehen kommt.

Die Injectionsstelle wird dann mit 2 proc. Lysollösung abgerieben, womit der Impfact beendet ist.

Die wichtigste Aenderung, welche die Anweisung gegen die frühere enthält, ist die Angabe über das zur Schutzimpfung geeignetste Alter. Während wir ursprünglich Rinder bis zu $1^1/_2$ und 2 Jahren impften, enthält schon die Anweisung in Johne's Zeitschrift die Bestimmung, dass nur bis 12 Monate alte Thiere zu impfen sind. Wie aus unserer jetzigen Anweisung (Absatz 1) hervorgeht, sind wir nunmehr auf Milchkälber zurückgegangen, also Kälber im Alter von 3 Wochen bis zu 3 Monaten.

Zur Erklärung dieser Abänderung muss ich etwas näher auf die Erfahrungen eingehen, welche wir bisher über die nach den Schutzimpfungen auftretenden Folgeerscheinungen machten. In vielen Fällen haben wir nach der von uns vorgeschriebenen Erstinfection mit 0,004 Grm. Vac.-Tb. nicht die geringste Gesundheitsstörung nach der Impfung gesehen. Manchmal aber, und zwar namentlich bei älteren Thieren, welche in ihrer Saugperiode mit nicht sterilisirter Milch ernährt waren, also einer in-

fantilen, intestinalen Infection ausgesetzt gewesen waren, stellte sich lebhaftes, über viele Tage hinziehendes Fieber, verbunden mit allgemeinen Krankheitserscheinungen, Husten, verminderter Fresslust etc. ein. In einigen Fällen traten sogar die unzweideutigen Anzeichen einer pneumonischen Affection der Lungen auf. Diese Erfahrungen veranlassten uns, zur Schutzimpfung möglichst junge Thiere auszusuchen, weil zu erwarten war, dass diese Thiere, wenn sie auch vielleicht schon inficirt sind, doch nicht einen Grad der Ueberempfindlichkeit erreicht haben, der die Anwendung der Schutzimpfung bedenklich macht. In der That haben wir nach der Schutzimpfung ganz junger, in den ersten Lebenswochen stehender Kälber auch in inficirten Stallungen in der Regel keine üblen Folgeerscheinungen der Schutzimpfung gesehen. Unsere diesbezüglichen Institutserfahrungen wurden bestätigt durch die uns aus der Praxis zugehenden Mittheilungen, insbesondere durch Versuche auf mecklenburgischen Gütern, wo die Zahl der auf die Schutzimpfung folgenden Reactionen schrittweise mit dem Alter der Thiere zunahm, und ausserdem auf denjenigen Gütern durchaus fehlte, wo man durch Aufzucht der Kälber mit Tb.-freier Milch die Gefahr einer Fütterungsinfection mit Erfolg zu vermeiden gesucht hatte (vergl. S. 100 und Tafel 9 bis 9k des Anlageheftes). Die Folgeerscheinungen der Schutzimpfung bei den Rindern haben uns von verschiedenen Gesichtspunkten aus interessirt. Wer die bisherigen Publicationen aus dem hiesigen Institut über die Schutzimpfung der Rinder aufmerksam verfolgt hat, wird bemerkt haben, dass wir von dem früheren Vorschlag, nur auf Tuberculin nicht reagirende Rinder zur Schutzimpfung heranzuziehen, zurückgekommen sind, und zwar zunächst mit der Begründung, dass die nach der Schutzimpfung folgende Reaction ebenso sichere diagnostische Schlüsse auf Freisein von Tuberculose oder Tuberculoseverdächtigkeit zulässt, wie die Ergebnisse diagnostischer Tuberculinimpfungen. Es geht ja auch schon aus einer einfachen Berücksichtigung der in den Vac.-Tb. enthaltenen Giftmenge und aus der Thatsache, dass diese Giftquantität von der Blutbahn aus stärker wirksam ist, als das subcutan applicirte Tuberculin, hervor, dass bis zu einem gewissen Grade die Impfstoffreaction der Tuberculinreaction gleichzusetzen ist. In der That haben wir auch in vergleichenden Versuchen feststellen können, dass einer positiven Tuberculinreaction meist auch eine entsprechende Impfstoffreaction entspricht. Genauere Analysen dieser letzteren haben uns aber gezeigt, dass sie weder qualitativ noch quantitativ der Tuberculinwirkung gleichzusetzen ist.

Wir konnten nämlich deutliche Impfstoffreactionen auch in solchen Fällen feststellen, in denen sich noch keine Herde im Körper gebildet hatten, in Fällen also, bei denen in der Regel die übliche Tuberculindosis ein negatives Ergebniss liefert; immer aber handelte es sich dann um solche Fälle — und das ist für die Beurtheilung des Werthes der Reaction besonders bedeutungsvoll —, wo wir nach unseren epizootischen Erfahrungen berechtigten Grund zu der Annahme einer bereits stattgefundenen Tb.-Infection hatten. Wir sind demnach der Meinung, dass uns die Reactionen nach der Schutzimpfung nicht nur die Fälle anzeigen, in denen die tuberculöse Infection sich schon in Tuberculoseherden manifestirt, sondern auch die in die „Incubationszeit“ zwischen der Infection und der be-

ginnenden Herderkrankung fallenden Stadien des Infectionsprocesses erkennen lassen. Der Unterschied in der Tb.-Ueberempfindlichkeit im Vergleich zu der Tub.-Tuberculin-Ueberempfindlichkeit wird übrigens verständlich sein, wenn man berücksichtigt, dass mit unserem Impfstoff lebendes und vermehrungsfähiges Material in die Blutbahn des Rindes eingeführt wird, während bei der Tuberculinprüfung nicht vermehrungsfähiges Gift in das Unterhautzellgewebe gelangt. Der Tb.-Ueberempfindlichkeit kommt auch eine gewisse prognostische Bedeutung zu. Wir haben erfahren, dass die Empfindlichkeit gegenüber intravenös injicirten Tb. in der Regel um so grösser ist, je längere Zeit nach der Infection verstrich, dass also die Wahrscheinlichkeit, es in solchen Fällen mit einem schon manifest gewordenen tuberculösen Process zu thun zu haben, sehr gross ist. Wir sind gegenwärtig zu der Ueberzeugung gelangt, dass in vielen Fällen mit positiver Impfstoffreaction die Schutzimpfung eine heilsame Wirkung haben wird, ähnlich wie die Pasteur'sche Wuth-Schutzimpfung auch noch nach erfolgter Infection heilsam sein kann. In den Fällen aber, in welchen schon eine Manifestirung des tuberculösen Processes eingetreten ist, was durch excessive Tb.-Ueberempfindlichkeit angezeigt wird, möchten wir vorläufig die Prognose zweifelhaft lassen. Die Beobachtung und Registrirung der auf die Schutzimpfung folgenden Reaction ist danach für die Beurtheilung des Werthes und des Erfolges unserer Schutzimpfungsmethode von erheblicher Bedeutung.

Aus diesem Grunde, sowie zur Sammlung praktisch wichtiger statistischer Daten, und insbesondere auch um unsere Erfahrungen über die Bedeutung der Impfstoffreaction zu ergänzen und zu erweitern, haben wir bisher die Abgabe des Impfstoffs von gewissen Bedingungen, die sich auf Protokollführung, Uebersendung von Temperaturcurven etc. bezogen, abhängig gemacht. Nachdem der Impfstoff zum Verkauf freigegeben ist, werden wir von dem Verlangen der unweigerlichen Befolgung dieser Bedingungen absehen müssen und uns begnügen mit der Uebersendung der Protokolle derjenigen Impfärzte, welche bisher uns auf Grund persönlicher Verabredung wirksam unterstützt haben. Da aber diese „Bedingungen", welche früher von uns schriftlich fixirt waren, auch für andere Impfärzte werthvolle Fingerzeige über die beste Art der Protokollführung über die geimpften Rinder enthalten, fügen wir sie hier noch einmal bei.

Bedingungen für die Impfstoffabgabe zu schematischen Schutzimpfungen von Rindern gegen Tuberculose.

1. Der Impfstoff wird geliefert durch die Firma „Dr. Siebert und Dr. Ziegenbein in Marburg a. d. Lahn."

2. Seitens dieser Firma wird der Impfstoff abgegeben in Füllungen zu 5 I.-E. und zu 20 J.-E. Der Preis beträgt für die Füllungen zu 5 I.-E. vorläufig 40 Pfennig pro I.-E., für die Füllungen zu 20 I.-E. vorläufig 25 Pfennig pro I.-E. Die gewünschte Art der Abfüllung ist bei der Bestellung anzugeben.

3. Die Impfstoffempfänger verpflichten sich zur Führung und Einlieferung folgender Protokolle:

a) Temperaturcurventabellen: Die Temperaturmessungen werden registrirt durch Curvenzeichnung in einer nach folgendem Schema eingerichteten Temperaturtabelle:

Juli

№ 1 (Rind 1). 1903. 42° 20 21 22 23

41°

40°

39°

38°

Die Formulare für die Einzeichnung der Temperaturcurven sind erhältlich bei dem Lithographen Meder in Marburg, Judengasse, zum Preise von:

38 Mk. für 1000 m	1 m Curvenschema reicht für die Registrirung der Messungen von ca. 10 Rindern aus.
22 „ „ 500 m	
12 „ „ 250 m	
5 „ „ 100 m	
3 „ „ 50 m	
2 „ „ 25 m	

Es sind unter allen Umständen auszuführen Messungen je zweimal an den beiden der Schutzimpfung vorausgehenden Tagen, zweimal am Impftage und je zweimal an den auf den Impftag folgenden Tagen. Die Messungen sind nach der Impfung so lange fortzusetzen, bis die Temperatur zur Norm zurückgekehrt ist und sich keinerlei Störungen des Allgemeinbefindens zeigen: die Messungen sind auf alle Fälle 5—7 Tage lang nach der Impfung fortzusetzen. — Eine Gewichtsbestimmung soll, wenn möglich, alle 14 Tage erfolgen.

Die Temperaturtabellen sind jedesmal nach Beendigung der auf eine Erst- bezw. Zweitimpfung folgenden Temperaturmessungen an die „Experimentelle Abtheilung des hygienischen Instituts in Marburg-Lahn" einzusenden.

In dem Curvenschema soll, abgesehen von der Temperaturcurve, am Tage der Impfung die Dosirung (Zahl der injicirten I.-E.), die Operations-Nummer, sowie die Applicationsweise des Impfstoffs angegeben werden. Am Fuss des Schema sind zutreffendenfalls an den entsprechenden Tagen Notizen über ev. sich einstellenden Husten, Appetitverlust und sonstige allgemeine Krankheitserscheinungen anzubringen. Ebendort ist das Gewicht der Impflinge an den betr. Tagen zu vermerken.

b) Sammellisten: Schemata für die Sammellisten sind erhältlich durch die Universitätsdruckerei von Carl Gleiser in Marburg a. d. Lahn

25 Bogen für Mk. 2,50	1 Bogen reicht für die Eintragung von 4—5 Rindern aus.
50 „ „ „ 4,—	
75 „ „ „ 6,—	
100 „ „ „ 7,50 postfrei.	

A.	B.	C.	D.					E.			F.				G.		H.	I.
			Nationale					Art der Aufzucht			Schutz-Impfungen				Tuberculin-Prüfungen			
Laufende Marburger Nummer	Laufende Nummer d. Impfarztes	Zucht-, Herdbuch- oder Markirungs-Nummer	I.	II. Stand-Ort des Impflings		III.	IV.	I.	II. künstlich		I.	II.	III.	IV.	I.	II.	Gewichtsverhältnisse	Besondere Bemerkungen
			Besitzer	a. am Tage der Geburt	b. am Tage der Erstimpfung	Rasse	Geschlecht	Natürlich (Saugkalb)	a. m. nicht sterilisirter Milch	b. mit sterilisirter Milch	Operat. No. des Impfstoffes	Dosis in Gramm bezw. Ccm	Datum und Art der Impfung	Grad der Reaction	Datum	Grad der Reaction		

Die Schemata zeigen nebenstehende Form.

Anweisung für die Führung der Sammellisten: Die Rubrik A lässt der Impfarzt unausgefüllt. Rubrik B enthält die Nummern seiner Impflinge in fortlaufender Reihe. Rubrik C ist nur zutreffendenfalls auszufüllen. Rubrik D ist ohne Weiteres verständlich. Unter E ist die zutreffende Rubrik durch einen Strich (|) zu kennzeichnen. In Rubrik F IV ist der Grad der auf die Schutzimpfung folgenden Reaction durch die Zeichen: 0 bezw. I, bezw. II, bezw. III zu bezeichnen. Dabei bedeutet:

- 0 = Ausbleiben jeder Reaction,
- I = Kurze Fieberreaction,
- II = 2—4 Tage anhaltende Fieberreaction.
- III = 5—8 Tage anhaltende Reaction, verbunden mit anderweitigen Krankheitserscheinungen (Husten, Gewichtsverlust, Verminderung der Fresslust, Diarrhoe etc.).

In der gleichen Weise ist der Grad der auf eine spätere Tuberculinprüfung folgenden Reaction zu kennzeichnen (Rubrik G). In Rubrik H ist bei den Gewichtsangaben stets das betr. Datum hinzuzufügen.

Die Uebersendung der Listen erfolgt, sobald die Messungen von ca. 100 schutzgeimpften Rindern beendet sind.

c) Allgemeiner Bericht: Der allgemeine Bericht über die Art der Unterbringung der schutzgeimpften Rinder, die stallhygienischen Verhältnisse, das bisherige Vorkommen von Perlsucht unter den Rindern der Herde, die ev. frühere Anwendung und den Erfolg anderweitiger Tuberculosetilgungsverfahren etc. soll mit den Sammellisten übersandt werden.

4. Für die technisch einwandsfreie Ausführung der Schutzimpfungen und damit für den ohne Impfschäden erreichbaren Impferfolg haben die Viehbesitzer Sorge zu tragen. Die Firma Dr. Siebert und Dr. Ziegenbein kann dafür eine Verantwortung nicht übernehmen.

Die vorstehenden Bedingungen werden auch jetzt noch auf mehreren grossen Gütern gewissenhaft innegehalten. Für kleinere landwirthschaftliche Betriebe haben wir aber nach mehreren Richtungen erleichterte Abgabebedingungen concediren müssen. Als Beispiel dafür mag der nachstehende Erlass des Grossherzoglich hessischen Ministeriums des Innern vom 16. November 1903 dienen:

Abschrift!

Darmstadt, am 16. November 1903.

Betreffend: **Die Immunisirung des Rindviehs gegen Tuberkulose.**

Das Grossherzogliche Ministerium des Innern
Abtheilung für öffentliche Gesundheitspflege.

An die Grossherzoglichen Kreisveterinärämter.

Nachdem auf das Ausschreiben Grossherzoglichen Ministeriums des Innern vom 19. August l. Js. zu No. M. d. J. 26218 Anmeldungen von Landwirthen bereits in grösserer Zahl eingelaufen sind und da, wie uns bekannt geworden ist, noch weitere Anmeldungen bevorstehen, hat wegen der demnächst auszuführenden Impfungen eine mündliche Besprechung zwischen dem Wirklichen Geheimen Rath Professor Dr. v. Behring in Marburg und unserem Referenten stattgefunden. Dabei hat Herr v. Behring für die Anwendung seines Verfahrens folgenden Grundsätzen zugestimmt:

1. Die Schutzimpfung besteht in der intravenösen Einspritzung einer Immunisirungseinheit Tuberkelkeime (vom Menschen) in steriler physiologischer Kochsalzlösung zerrieben, und in einer 3 Monate später vorzunehmenden intravenösen Einspritzung von fünf Immunisirungseinheiten derselben Keime.

2. Die fraglichen Tuberkelkeime können in Gläschen zu 5 und zu 20 Immunisirungseinheiten bezogen werdeu.

3. Der Schutzimpfung sind in der Regel nur Thiere ohne äussere Krankheitserscheinungen im Alter von 3 Wochen bis 4 Monaten (bei der ersten Einspritzung) zu unterwerfen. Bei gesunden Rindern in diesem Alter braucht es einer vor der Schutzimpfung vorzunehmenden Tuberkulinprobe nicht, und zwar auch dann nicht, wenn die Thiere einem notorisch an Tuberkulose verseuchten Bestand angehören.

4. Ausnahmsweise können auch ältere Rinder, und zwar solche im Alter von 4 Monaten bis zu 2 Jahren der Schutzimpfung unterworfen werden, jedoch nur dann, wenn die Thiere vollständig frei von Krankheitserscheinungen sind und wenn eine vorher vorzunehmende Tuberkulinprobe vollständig reactionslos verläuft.

5. Die Impfthiere sind 2 Tage vor und 14 Tage nach der Impfung im Stalle zu halten.

6. In allen Fällen, in denen die Besitzer mit dem Messen der Mastdarmtemperatur umgehen können, sind dieselben anzuhalten, zwei Tage vor der Impfung zweimal (Morgens und Abends) und am Morgen des Impftags einmal bei jedem Impfthiere die Temperatur zu messen und zu notiren. Dasselbe hat nach der Impfung noch einmal Abends und dann an den folgenden fünf Tagen je einmal zu geschehen. Zeigen die Thiere nach dieser Zeit noch Temperaturen über 39.2 ° C., so sind die Messungen bei diesen Thieren so lange fortzusetzen, bis die Temperatur bei ihnen auf 39,2 ° C. herabgegangen ist.

7. Bei Thieren, welche bei der ersten Einspritzung das Alter von 4 Monaten nicht überschritten haben, kann von den Temperaturmessungen abgesehen werden, wenn sich derselben Schwierigkeiten entgegenstellen. Bei Thieren jedoch, die bei der ersten Einspritzung das Alter von 4 Monaten überschritten haben, sind die Temperaturmessungen stets in der in Ziffer 6 angegebenen Weise vorzunehmen. Auch bei Impfungen in verseuchten Beständen sollen die beschriebenen Messungen, wenn irgend thunlich, immer vorgenommen werden.

8. Die Impfthiere sind, wenn es ohne besondere Schwierigkeiten geschehen kann, alle 14 Tage auf einer Viehwage zu wiegen.

9. Ueber die erfolgten Temperaturmessungen und Wägungen haben die Besitzer Aufzeichnungen zu machen. Diejenigen über die Messungen wollen Sie nach Ablauf der für diese vorgeschriebenen Zeit, diejenigen über die Wägungen aber nach 3 Monaten einfordern. Das Ergebnis der Temperaturmessungen ist für jeden Impfling in die Ihnen zu diesem Zweck zugehenden Tabellenformulare als Temperaturkurve in doppelter Ausfertigung einzutragen. Je eine dieser Tabellen ist alsbald an unseren Referenten und an die experimentelle Abtheilung des hygienischen Instituts zu Marburg a. d. Lahn einzusenden.

10. Die geimpften Thiere sind durchweg dauernd zu kennzeichnen. Diejenigen Thiere, an denen Temperaturmessungen und Wägungen vorgenommen werden, sind ausserdem mit einer Nummer zu versehen.

Die Art der Kennzeichnung und Nummerirung überlassen wir Ihrer Wahl.

11. Soweit Sie nicht bereits Kenntniss von den erfolgten Anmeldungen zur Impfung haben, wollen Sie sich dieserhalb mit Grossherzoglichem Kreisamt ins Benehmen setzen. Hierauf wollen Sie, sobald Sie sich durch entsprechende Anfrage bei den Besitzern über das Alter und den Gesundheitszustand der zu impfenden Thiere verständigt haben, unserem Referenten Mittheilung über die Zahl derjenigen Thiere machen, welche nach den im Vorhergehenden enthaltenen Bedingungen der Impfung unterzogen werden können. Die Angaben sind für jeden Ort besonders zu machen.

12. Die zur Impfung erforderlichen Impfstoffe und sonstigen Utensilien werden von uns beschafft und Ihnen nebst einer genauen Gebrauchsanweisung geliefert werden.

Wir werden Sorge tragen, dass der erstmalig von Ihnen auszuführenden Impfung unser Referent oder ein anderer von uns Beauftragter beiwohnt.

Folgt Unterschrift.

B) Erfahrungen bei der Ausführung der Schutzimpfungen in der Praxis.

Unsere ersten Versuche der Uebertragung unserer Schutzimpfungsmethode in die landwirthschaftliche Praxis wurden in der Umgebung Marburgs z. Th. von uns selbst, z. Th. von den Kreisthierärzten der benachbarten Kreise ausgeführt; diese Versuche sollten im Wesentlichen

den Charakter von orientirenden Vorversuchen haben. Später bot sich durch die Meierei Bolle in Berlin Gelegenheit, das Impfverfahren an einer Anzahl Rinder anzuwenden, welche im hiesigen Institut immunisirt wurden und seitdem unter den natürlichen landwirthschaftlichen Bedingungen gehalten werden. Gelegenheit zu grösserer Ausdehnung unserer Versuche boten uns sodann die Güter des Prinzen Ludwig von Bayern zu Sarvar in Ungarn, ferner (durch Vermittelung des Grafen Schwerin-Göhren) eine Anzahl mecklenburgischer Güter, endlich die Güter des Erzherzog Friedrich von Oestreich in Teschen und mehrere ungarische Güter in der Nähe von Budapest.

In kleinerem Umfange wurden Versuche ausgeführt in Sondershausen, Giessen und in Wien. Im Ganzen besitzen wir jetzt genau geführte Impfprotokolle von ca. 1000 Rindern, die theils einer Erstimpfung, theils einer Erst- und Zweitimpfung unterzogen worden.

Im Folgenden soll über die Erfahrungen berichtet werden, welche bei der Ausführung der Impfungen von uns selbst und von den uns unterstützenden Impfärzten gemacht wurden. Bereits die orientirenden Vorversuche in der Umgebung Marburg's bestätigten die durch unsere Laboratoriumsversuche gewonnene Erfahrung, dass sich erhebliche Schwierigkeiten der Einführung des Verfahrens in die Praxis nicht entgegenstellen. Die technischen Schwierigkeiten waren ausserordentlich gering und selbst unter den ungünstigsten Bedingungen (enge, schlecht beleuchtete Stallungen, Unreinlichkeit im Stall etc.) leicht zu überwinden. Auch zeigte sich schon in diesen Vorversuchen, dass das Verfahren an sich ein absolut unschädliches ist. Zu Versuchen in dem Sinne, die Leistungsfähigkeit der Jennerisirung zu erproben, erwiesen sich die landwirthschaftlichen Verhältnisse in der Umgebung Marburg's nicht geeignet. Grössere Güter giebt es hier kaum, und die vorhandenen kleineren Gutsbesitzer konnten aus eigenen Mitteln die von uns gestellten Bedingungen nicht erfüllen. Diese bestanden hauptsächlich in dem Verbot des Verkaufes der geimpften Thiere und in dem Uebersenden genauer Sectionsbefunde nach der Schlachtung von Impflingen. Wir waren deshalb genöthigt, weitere Kreise für die praktische Anwendung des Schutzimpfungsverfahrens zu interessiren.

Hierzu wurde uns zunächst durch das wissenschaftliche Interesse und die stets bereite Opferwilligkeit des Herrn Commercienrath Bolle sowie seines Sohnes, des Herrn Dr. Bolle in Berlin, Gelegenheit geboten. Von der Firma Bolle in Württemberg angekaufte Rinder wurden von uns hier in Marburg einem Immunisirungsverfahren unterworfen und dann nach Beendigung desselben in einem landwirthschaftlichen Betrieb (Köpenik) untergebracht. Durch den in unserem Institut ausgebildeten sachverständigen Thierarzt Dr. Schade sind dann Seitens der Meierei Bolle noch weitere schematische Schutzimpfungen in der Praxis ausgeführt worden. Auch sind zur Zeit ebendort Versuche im Gange zur Prüfung des Immunitätsgrades der schutzgeimpften Rinder. Die von uns in Marburg schutzgeimpften Rinder der Meierei Bolle sind 10 Monate nach der Schutzimpfung einer Tuberculinprobe unterzogen worden. Es reagirte dabei nur ein Rind, welches vor Beginn des Schutzimpfungsverfahrens typische Reaction gezeigt hatte, also schon als tuberculös anzusehen war.

Weitere Versuche wurden auf einem grossherzoglich-hessischen Gute

in der Nähe von Giessen ausgeführt. Auch diese Thiere sind 10 Mo[nate]
nach der Erstimpfung mit Tuberculin geprüft worden, ohne dass a[uch]
nur eines reagirt hätte; einige dieser Rinder sollen jetzt auf [ihre]
Widerstandsfähigkeit gegen künstliche Infection mit virulen[tem]
Material geprüft werden. Die bisherigen Versuche im Grossherzogt[hum]
Hessen, welche noch ergänzt wurden durch die oben geschilderten [Ver-]
suche des Herrn Ober-Medicinalrath Lorenz an Marburger Rindern ha[ben]
ein derartiges Vertrauen zu dem Verfahren bei den zuständigen Behö[rden]
hervorgerufen, dass Seitens des dortigen Ministeriums des Innern s[chon]
am 19. August 1903 die Bestimmung erlassen ist, auf Kosten [der]
Polizeikasse in allen Viehbeständen die schematische Schutzimp[fung]
einzuführen, deren Besitzer sich zur Einhaltung gewisser Bedingu[ngen]
(betr. Protokollführung etc.) verpflichten. Das Ministerium begrün[det]
diesen Erlass u. A. mit folgenden Worten:

„Wenn auch, wie in der Natur der Sache liegt, eine vollstän[dige]
Gewissheit über den Werth des Verfahrens nach allen Richtungen
bis jetzt nicht zu erlangen war, so ist doch nach den Ergebnissen
diesseits wie anderwärts vorgenommenen Versuche anzunehmen, das[s die]
Anwendung des Verfahrens für die betr. Rinder und Bestände gefa[hrlos]
ist, wie, dass dadurch ein genügender Schutz gegen die Krankhei[t zu]
erlangen sein dürfte. Jedenfalls haben die seither ausgeführten P[robe-]
impfungen und Controlversuche dazu beigetragen, in dem Verfahre[n die]
Aussicht auf eine glückliche Lösung der Frage der Bekämpfung [der]
Rindertuberculose auf einfache und verhältnissmässig billige Weis[e zu]
erblicken.“

Durch Herrn Landesthierarzt Saass wurde sodann in Wie[n an]
22 Rindern das Immunisirungsverfahren durchgeführt. Die Wiener [Ver-]
suche waren deshalb für uns besonders lehrreich, weil sie uns ze[igten,]
dass es nicht empfehlenswerth ist, zum Zweck schematischer S[chutz-]
impfungen die jungen Rinder aus den gewohnten Unterbringungs- [und]
Ernährungsverhältnissen herauszunehmen und etwa in einem cen[tralen]
Institut zu immunisiren. Die dem Text beigefügten Temperaturc[urven]
dieser Rinder (Tafel 10 bis 10e des Anlageheftes) lassen erkennen, dass [das]
Verfahren nicht unerhebliche Störungen des Allgemeinbefindens zur [Folge]
hatte, bei einem Thier sogar die Schlachtung nothwendig machte. [Wir]
haben die Temperaturcurven dieser Rinder auch aus dem Grunde [hier]
in extenso mitgetheilt, weil aus ihnen die Beziehungen zwischen [Impf-]
stoffreaction und Tuberculinwirkung zum Theil erkannt werden k[önnen.]

Herr Professor Hutyra in Budapest hat auf einigen u[ngari-]
schen Gütern die Schutzimpfung durchgeführt. Die Versuche sind
in stark durchseuchten Stallungen vorgenommen worden. Von s[ämmt-]
lichen in einer Herde befindlichen Jungrindern ist hier nur die [Hälfte]
derselben der Schutzimpfung unterzogen, damit späterhin durc[h Ver-]
gleichung der nicht geimpften Rinder mit den geimpften eine C[ontrole]
des Werthes der Schutzimpfung ausgeübt werden kann. Die Ve[rsuche]
sind im Uebrigen dort noch derartig organisirt, dass in den stark [infi-]
cirten Stallungen die schutzgeimpften Rinder zwischen tuberculinrea[giren-]
den älteren Rindern aufgestellt sind. Es wird also das Ergebniss [dieser]
Versuche zur Beurtheilung des Werthes der Schutzimpfung wege[n]

absichtlich gesteigerten Infectionsgefahr ganz besonders bedeutungsvoll werden.

Immunisirungsversuche, angestellt auf einer Domäne im Fürstenthum Schwarzburg-Sondershausen, konnten uns in unserem Vorschlag, nur junge Thiere zur Impfung heranzuziehen, nur bestärken. Es handelt sich dort um einen offenbar sehr stark inficirten Bestand. Die Jungrinder, welche der Schutzimpfung unterzogen wurden, waren mindestens 12 Monate alt und reagirten fast sämmtlich auf die Erstimpfung sehr heftig. Ein Thier, das 4 Tage lang nach der Impfung gefiebert hatte, zeigte bei der Section schon ausgedehnte tuberculöse Veränderungen im Körper. Es ist ohne Weiteres verständlich, dass in solchen Fällen ein Schutzimpfungsverfahren kaum noch Erfolg haben kann, zeigt aber zugleich, wie empfehlenswerth es ist, die der Erstinfection folgende Reaction genau zu beobachten und zu registriren, wenn man ein einwandsfreies Urtheil über den Werth der Schutzimpfung nach einiger Zeit bekommen will.

In grösserem Umfang wurden zuerst Immunisirungsversuche ausgeführt auf den Gütern des Prinzen Ludwig von Bayern zu Sárvár in Ungarn durch Herrn Dr. Strelinger. Dort sind zur Zeit schon 200 Rinder in jugendlichem Alter geimpft. Ueber 100 Rinder, welche zum ersten Mal vor 1 Jahr schutzgeimpft sind, liegen uns genaue Temperaturtabellen (vergl. Tafel 11 bis 11f des Anlageheftes) und Sammellisten im Sinne unserer obigen „Bedingungen“ vor. Die Tabellen und Temperaturcurven über diese Rinder waren deshalb uns sehr interessant, weil sie uns experimentelle Beläge für die Richtigkeit unserer Anschauung von der grossen Bedeutung der intestinalen Infection für Kälber durch Tb.-haltige Milch und für die Bedeutung der Ernährungsfrage der Milchkälber in Bezug auf die Tuberculoseinfection haben. Ich erinnere an das oben bezüglich der nach den Erstimpfungen auftretenden Reactionen Gesagte und verweise noch einmal auf den Passus in den „Bedingungen“ (S. 95) betreffend unsere Classificirung der Reactionsstärke (0, I II u. III). Ich lasse sodann zwei Tabellen folgen, welche sich auf die Impfstoffreactionen der in Sárvár geimpften Rinder beziehen. Sämmtliche Rinder, die für diese Tabelle verwerthet wurden, sind im Wesentlichen unter den gleichen Bedingungen aufgewachsen; Tabelle I bezieht sich auf die mit sterilisirter Milch, Tabelle II auf die mit nicht sterilisirter Milch grossgezogenen Kälber.

Tabelle I.
Von den mit steriler Milch ernährten Kälbern zeigten Reaction:

	0	I	II	III
Zahl	76	4	1	—
in pCt.	93,8	4,9	1,3	—

Tabelle II.
Von den natürlich grossgezogenen Kälbern zeigten Reaction:

	0	I	II	III
Zahl	8	3	7	1
in pCt.	42,1	15,8	36,8	5,3

Die grossen Unterschiede in dem Ausfall der Impfstoffreactionen bei den mit Tb.-freier und den mit verdächtiger Milch ernährten Kälbern

Tabelle V.
Reactionen auf dem Gute L.

Stärke der Reaction	0	I	II	III
Zahl	1	4	12	—
in pCt.	5,9	23,5	70,6	—

Etwas günstiger verhielt sich das Gut W., obwohl, wie die nachfolgende Tabelle VI demonstrirt, auch hier die meisten Kälber, wenn sie ein Alter von 5—6 Monaten erreicht hatten, lebhafte Reaction nach der Impfung aufwiesen.

Tabelle VI.
Reactionen in W.

Stärke der Reaction		0	I	II	III	Summa
im Alter bis zu 2 Monaten	Zahl	10	5	—	—	15
	in pCt.	66,7	33,3	—	—	
im Alter von 2—4 Monaten	Zahl	9	8	3	—	20
	in pCt.	45	40	15	—	
älter als 4 Monate	Zahl	4	10	5	1	20
	in pCt.	20	50	25	5	

Von der zuerst aufgeführten Herde in G. lasse ich die Fiebercurven der ersten 40 schutzgeimpften Rinder dem Texte folgen (Tafel 9 bis 9h des Anlageheftes): aus ihnen kann die Art des Fieberlaufs, sowie aus der beigegebenen Erläuterung die Art unserer Beurtheilung des Grades der Impfstoffreactionen erkannt werden.

Ein ganz anderes Bild bieten die ebenfalls dem Text nachfolgenden Curven einiger auf dem Gute Wlh. geimpfter Rinder (Tafel 9h bis 9k des Anlageheftes). hier reagirt von 17 schutzgeimpften Rindern nicht ein einziges. Ebenso auf dem Gute B., wo 21 Thiere schutzgeimpft wurden. Das Ergebniss der Impfungen auf den beiden letztgenannten Gütern ist deshalb besonders lehrreich, weil sie Vorwerke des zuerst geschilderten stark verseuchten Gutes G. sind. Wenn trotzdem diese Vorwerke fast durchweg tuberculosefreie Milchkälber haben, so ist das nach E. dem Umstande zuzuschreiben, dass die Milch dieser Herden nicht in die Sammelmolkerei gebracht, sondern für sich verarbeitet wird. Da aber der Gesundheitszustand dieser Herden ein sehr guter ist und auch früher stattgefundene Tuberculinprüfungen nur wenige reagirende Thiere ergaben, so erfolgt in diesen Ställen die Aufzucht der Kälber eben mit Tb.-freier Milch; nicht mit Unrecht schreibt E. gerade diesem Moment eine besondere Bedeutung für die günstigeren gesundheitlichen Verhältnisse dieser Herde zu. Die Ergebnisse der Schutzimpfungen auf den Mecklenburger Gütern, die sich noch durch ähnliche Beispiele mehren liessen, sind deshalb besonders bedeutungsvoll, weil sie einmal den diagnostischen Werth unserer Impfstoffreaction erkennen lassen, und weil sie anderseits sehr drastisch die grosse Gefahr demonstriren, welche Milchkälbern durch den auf intestinalem Wege eingedrungenen Tuberkelbacillus droht.

Die Schutzimpfungsversuche werden in Mecklenburg weiter eifrig fortgesetzt, so dass im Verlauf der nächsten 3 Monate wahrscheinlich weitere 1000 Milchkälber durch Herrn Ebeling schutzgeimpft sein werden.

Inzwischen sind neue Immunisirungsversuche auf den Gütern des Erzherzog Friedrich von Oesterreich zu Teschen begonnen worden. Bis jetzt liegen uns die Tabellen über 80 geimpfte Tiere vor. Auch dort finden sich bei den mit sterilisirter Milch grossgezogenen Kälbern viel weniger Reactionen als bei den natürlich genährten Thieren. Allerdings sind hier die Differenzen zu Ungunsten der letzteren nicht so in die Augen fallend, wie z. B. in Mecklenburg, weil die an der Mutter ernährten Kälber grösstentheils solchen Stallungen entstammen, in denen eine consequente Durchführung des Bang'schen Tuberculosetilgungsverfahrens die tuberculösen Erkrankungen sehr stark eingeschränkt hat.

Wir haben die Protokolle aller derjenigen schutzgeimpften Rinder, bei denen wir mit einiger Sicherheit feststellen konnten, ob sie mit Tb.-freier oder Tb.-verdächtiger Milch ernährt waren (ca. 300 Thiere), nach der Stärke der auf die Schutzimpfung folgenden Reactionen zusammengestellt und sind dabei zu folgenden Zahlen gelangt:

Tabelle VII.
Von den mit Tb.-verdächtiger Milch grossgezogenen Kälbern zeigten Reaction:

0	I	II	III
48,1 pCt.	25,8 pCt.	18,0 pCt.	8,1 pCt.

Tabelle VIII.
Von den mit Tb.-freier Milch ernährten Kälbern zeigten Reaction:

0	I	II	III
74,2 pCt.	21,2 pCt.	4,6 pCt.	0 pCt.

Nach dem Alter dieser Thiere vertheilen sich die Reactionen in folgender Weise.

Tabelle VIIa (mit Tb.-verdächtiger Milch ernährte Rinder).

	0	I	II	III
unter 3 Monate alt	66,7 pCt.	31,3 pCt.	2,0 pCt.	0 pCt.
3—5 Monate alt	36,7 pCt.	30,0 pCt.	30,0 pCt.	3,3 pCt.
5—12 Monate alt	42,7 pCt.	22,3 pCt.	21,4 pCt.	13,6 pCt.

Tabelle VIIIa (mit Tb.-freier Milch ernährte Rinder).

	0	I	II	III
unter 3 Monate alt	90 pCt.	10 pCt.	0 pCt.	0 pCt.
3—5 Monate alt	61,9 pCt.	33,3 pCt.	4,8 pCt.	0 pCt.
5—12 Monate alt	69,6 pCt.	21,7 pCt.	8,7 pCt.	0 pCt.

Auch diese statistische Zusammenstellung, gewonnen aus den Schutzimpfungsergebnissen in den verschiedensten Gegenden, zeigt, wie gross die Bedeutung der intestinalen Infectionsgefahr für die Rinder ist.

C) Unschädlichkeit und Leistungsfähigkeit des Rinder-Immunisirungsverfahrens in der landwirthschaftlichen Praxis.

Schon bei Besprechung der experimentellen Begründung unseres Immunisirungsverfahrens machte ich darauf aufmerksam, dass wir vom Rind und Huhn stammende Tb. principiell von der Benutzung in der land-

wirthschaftlichen Praxis ausschliessen, weil nicht unbeträchtliche Gefahren mit der Anwendung dieser Tb.-Varietäten verbunden sind. Ich gab weiter einige Beispiele dafür, dass auch von Menschen stammende Tb. nicht immer sich geeignet erweisen für die unschädliche Immunisirung. Es liegt daher wohl die Frage nahe, ob wir auf Grund unserer bisherigen Erfahrungen in der Lage sind, beruhigende Mittheilungen über die Unschädlichkeit des von uns vorgeschlagenen Verfahrens zu machen. Das ist nun in der That der Fall. Die von uns zu den practischen Immunisirungsversuchen benutzte Cultur 1 ist seit vielen Jahren im hiesigen Laboratorium nach allen Seiten hin genau studirt, speciell sind an vielen Rindern mit ihr Infectionsversuche angestellt worden und stets mit dem Ergebniss, dass sie niemals eine allgemeine Tuberculose bei einem Thier hervorgerufen hat — Erfahrungen, welche insbesondere auch durch genaue Sectionen gewonnen wurden.

Weiter haben unsere neueren Institutsexperimente, sowie vor allem die an über 1000 Rindern in der Praxis ausgeführten Schutzimpfungen gezeigt, dass bei der von uns vorgeschlagenen Dosis noch niemals es zu ernsteren Gesundheitsstörungen gekommen ist. Zwar stellten sich, wenn ältere schon inficirte Thiere zur Impfung benutzt wurden, häufig die erwähnten Impfstoffreactionen, bestehend in mehrtägigem Fieber, manchmal verbunden mit Husten, verminderter Fresslust und Gewichtsverlust, ein; nach einiger Zeit aber war alles das wieder verschwunden. Auch diese Folgeerscheinungen lassen sich vermeiden, wenn man sich an unsere Vorschrift hält, nur Milchkälber der Schutzimpfung zu unterziehen. Auch aus der Praxis wissen wir durch Sectionen, dass die Impfung niemals Herde im Körper zurücklässt. Im Allgemeinen haben die Impfungen auf das Verhalten der Thiere (Futteraufnahme, Munterkeit etc.) nicht den geringsten Einfluss, selbst wenn vorübergehend die Temperatur ansteigt, und Herr Dr. Strelinger in Sárvár stellte durch vergleichende Gewichtsbestimmungen fest, dass die Gewichtskurve schutzgeimpfter Rinder mit der nicht behandelter Thiere zusammenfällt.

Was nun die therapeutische Leistungsfähigkeit unseres Verfahrens betrifft, so haben wir im Heft 5 der Beiträge darauf hingewiesen, dass die Infectionswege unter den natürlichen Verhältnissen wesentlich andere sind, als im Institutsexperiment, wo wir in das Unterhautbindegewebe, in die Blutbahn etc. das Virus auf einmal in grösserer Menge einführen, und dass die Möglichkeit, ein im Laboratoriumsexperiment als hoch immunisirt erkanntes Rind könne der natürlichen Infection nicht genügend Widerstand leisten, durchaus nicht a priori von der Hand zu weisen sei.

Inzwischen haben wir aber die experimentell begründete Ueberzeugung gewonnen, dass ein im Institutsexperiment als immun erkanntes Thier auch den natürlichen Infectionen gegenüber als tuberculosegeschützt angesehen werden darf. Bei unseren eigenen im Institut immunisirten Thieren, konnten wir, nachdem wir sie in tuberculosedurchseuchten Stallungen lange Zeit untergebracht und hinterher getödtet hatten, niemals Spuren spontaner Infection bei der genauen Section finden und aus der Praxis liegt schon eine grosse Zahl von Sectionsbefunden vor, welche ausnahmslos das Freisein der Thiere von Tuberculose bestätigen. Besonders bemerkenswerth in dieser Richtung scheinen mir die Resultate auf dem oben (S. 101) näher geschilderten Gute W. in

Mecklenburg. Im Sommer dieses Jahres zeigten sich in der geimpften Jungviehherde Erscheinungen einer schweren Lungenerkrankung, die sich bei der Section als eine Wurmerkrankung (Strongylus micrurus) herausstellte. Die Autopsie von 5 geschlachteten Thieren dieser Herde ergab aber gleichzeitig, dass dieselben absolut frei von Tuberculose waren — ein Ergebniss, das Angesichts der Thatsache, dass bisher in dieser Herde auch junge Rinder kaum jemals sich bei der Schlachtung als tuberculosefrei erwiesen hatten, dem Besitzer und dem anwesenden Thierarzt die Wirksamkeit der Schutzimpfung ad oculos demonstrirte. Auf den anderen Gütern in Meckenburg, auf denen die Schutzimpfung durchgeführt ist, erfreuen sich alle geimpften Thiere der besten Gesundheit, und der dortige Impfarzt ist jetzt schon von dem grossen Werth des Immunitätsverfahrens fest überzeugt. Denn in früheren Jahren starben nach seinen Erfahrungen an Tuberculose selbst von jungen Rindern im Verlauf des ersten Lebensjahres in den durchseuchten Stallungen schon $1^1/_2$ bis 2 pCt. des Gesammtbestandes. Demgegenüber lassen die vor 6—8 Monaten schutzgeimpften Rinder nichts von tuberculösen Erscheinungen erkennen.

Wir haben endlich zur Controle des Werthes der Schutzimpfung noch die Tuberculinprobe herangezogen. Zwar kann ein schutzgeimpftes Rind, welches auf Tuberculin reagirt, nicht ohne Weiteres als Beispiel eines Misserfolges der Impfung angesehen werden, da wir wissen, dass auch der Schutzimpfung eine zeitweilige Ueberempfindlichkeit gegen Tuberculin folgt. Ist aber genügende Zeit zwischen Schutzimpfung und Tuberculinprüfung verstrichen, so wird das Ergebniss allenfalls für die Beurtheilung des Verfahrens herangezogen werden dürfen. Ich erwähnte oben das Ergebniss der Tuberculinprüfungen der Bolle'schen sowie der Rinder im Grossherzogthum Hessen. Weiter haben wir in einem in der Nähe Marburgs gelegenen sehr stark tuberculosedurchseuchten Stall die Tuberculinprüfung ausgeführt. Dabei ergab sich, dass die schutzgeimpften Rinder die einzigen nicht reagirenden Thiere des Stalles waren. Von Herrn Dr. Strelinger sind 63 der von ihm vor einem Jahr der Schutzimpfung unterworfenen Rinder mit Tuberculin geprüft worden. Die Rinder haben in der Zwischenzeit in tuberculosedurchseuchten Herden zwischen reagirenden und z. Th. selbst hustenden Thieren gestanden. Die Tuberculinprüfung ergab bei 59 Thieren ein absolut negatives Resultat, bei 3 Thieren ein zweifelhaftes und bei einem einzigen eine deutliche Reaction. Dieses letztere Thier war ein Rind, das auf die erste Schutzimpfung so lebhaft reagirt hatte, dass es einer Zweitimpfung nicht mehr unterzogen wurde. Es war offenbar schon zur Zeit der Erstimpfung mit tuberculösen Herden behaftet.

Ueber die Dauer des Impfschutzes lassen sich, da die Schutzimpfung ja erst seit $1^1/_2$ Jahren in der Praxis eingeführt ist, noch keine bestimmten Mittheilungen machen. Aus experimentellen Erfahrungen sind wir aber zu der Annahme berechtigt, dass derselbe sehr lange, wahrscheinlich während der ganzen Lebensdauer, vorhalten wird. Auch ist die Vermuthung, dass die durch die Schutzimpfung geschaffene Grund-Immunität durch Spontan-Infectionen noch verstärkt wird, durchaus nicht unberechtigt.

Wenn wir endlich noch die Thatsache berichten, dass bisher uns

keinerlei Meldungen über Misserfolge des Schutzimpfungsverfahrens zugegangen sind, so wird wohl jeder unbefangen urtheilende Sachverständige mit uns die Hoffnung theilen, dass unsere Tuberculoseschutzimpfungen sich auch in der Praxis bewähren werden. Nach wie vor sind wir aber der Meinung, dass erst jahrelange Beobachtungen nothwendig sein werden, um den endgültigen Werth unseres Immunisirungsverfahrens zu erweisen. Die im Heft 5 der Beiträge zur experimentellen Therapie gleich Anfangs aufgeworfene Frage: „ob man junge Rinder ohne Schädigung ihrer Gesundheit durch eine verhältnissmässig einfach gestaltete und wenig kostspielige Vorbehandlung so beeinflussen kann, dass sie unter den natürlichen Lebensbedingungen in landwirthschaftlichen Betrieben vor den gefährlichen Folgen der Tuberculose-Infection geschützt bleiben“, glauben wir aber schon jetzt im Princip bejahen zu können.

Dass wir aber in unserer Ueberzeugung von der Leistungsfähigkeit der Schutzimpfungsmethode zur Bekämpfung der Rindertuberculose, ganz abgesehen von dem Vertrauen, das dem Verfahren allerorts seitens der Landwirthschaft entgegengebracht wird, nicht allein stehen, dürften u. a. die Worte beweisen, die einer der ersten Sachverständigen auf dem Gebiete der Veterinär-Medicin, Herr Ober-Med.-Rath Dr. Lorenz, jüngst ausgesprochen hat (Berliner thierärztliche Wochenschrift 1903, 48):

„Nach allem, was ich bis jetzt gesehen, habe ich die Ueberzeugung gewonnen, dass wir es hier mit einem Verfahren zu thun haben, das einschlagen wird, und dass es in Bezug auf die Bekämpfung der Rindertuberculose von ganz immensem Werth sein und an Billigkeit und Leichtigkeit der Durchführung alle bisher vorgeschlagenen Bekämpfungsmethoden weit übertreffen und überflüssig machen wird.“

„Es würde nicht allzu schwer fallen, es so einzurichten, dass alle Rinder bis zum Alter von 4 Monaten der Schutzimpfung unterzogen werden können. Dazu wäre allerdings ein gesetzlicher Impfzwang nöthig, ähnlich dem für die Pockenimpfung bei den Kindern. Es müssten in den einzelnen Orten viermal im Jahr Impftermine abgehalten werden. Dies wäre unschwer durchzuführen, auch nicht zu kostspielig. Wir würden dann innerhalb 10—12 Jahren fast vollständig tuberculosereine Rindviehbestände erhalten, denn über diesen Zeitraum hinaus leben nur wenige Rindviehstücke. Alle sonstigen Maassnahmen, wie Desinfection der Ställe, Isolirungen der Thiere in den Viehbeständen, können gespart werden, denn immunisirte Thiere können ohne Bedenken der Infection ausgesetzt werden, ja die Immunität wird, wie v. B. behauptet und es sich eigentlich von selbst versteht, bei ihnen durch eine auf natürlichem Weg erlangte Infection nur verstärkt. Auch was die Kosten anlangt, so lässt sich bereits heute schon eine Uebersicht aufstellen. Wir haben in Hessen rund 300000 Rinder. Bei einem Durchschnittsalter von zehn Jahren kommen auf dieselben 30000 impfbare junge Thiere. Diese würden je in zwei Impfterminen einzuspritzen sein und zwar würde es sich einrichten lassen, dass in jedem Termin die Zweitimpfung der vorausgegangenen und die Erstimpfung der neuen Serie vorzunehmen wäre. Es würden demnach in Hessen jährlich 60000 Einspritzungen zu machen sein, welche sich auf vier Termine vertheilen, so dass auf jeden Termin 15000 Ein-

stellt und wir gestatten uns die sehr ergebene Anfrage, ob Sie bereit sind die Impfungen vornehmen zu lassen und unter welchen Bedingungen.

Wir würden einige tüchtige Thierärzte gewinnen, Ihren Anordnungen gemäss die Impfung und Behandlung der Herde zu übernehmen und Ihnen Berichte zu erstatten."

Ferner kann nicht genug empfohlen werden, dass in einem nicht zu kleinen Bezirk die zur Impfung geeigneten Thiere an einer Centralstelle, vielleicht beim Kreisarzt, angemeldet und dann je nach der Zahl der Anmeldungen 3—4 Impfperioden im Jahre fesgesetzt werden, während welcher ein einziger Impfarzt das ganze Impfgeschäft besorgt.

Nach unseren Erfahrungen ist je nach den örtlichen Verhältnissen die Impfung von 25—50 Kälbern täglich ausführbar.

Je mehr Kreise für das Immunisirungsverfahren interessirt und in je grösserem Umfang die Schutzimpfungen in der Praxis ausgeführt werden, um so rascher können wir zu einem definitiven Urtheil über den Werth unserer Methode kommen. Ein solches endgültiges Urtheil wird aber auch dann — was wir noch einmal ausdrücklich betonen möchten — erst nach einigen Jahren möglich sein.

Das unserer Tuberculoseschutzimpfungsmethode zu Grunde liegende **Princip** darf jetzt als unerschütterlich feststehend betrachtet werden, und wir haben fortan es nicht mehr nöthig, immer mehr Beweise für seine Richtigkeit und Wichtigkeit beizubringen. Nur darum kann es sich jetzt noch handeln, durch eine grosse und möglichst einwandsfrei gewonnene Schutzimpfungsstatistik die Frage zu entscheiden, ob unsere seit dem Jahre 1902 festgelegte Methode der Nutzanwendung dieses Princips in der veterinärärztlichen Praxis verbesserungsfähig und verbesserungsbedürftig ist.

Druck von L. Schumacher in Berlin N. 24.

Erläuterung der nachfolgenden Protokolle.

Was die in den nachfolgenden Rinder-Protokollen zur Anwendung gekommenen Abkürzungen und Zeichen betrifft, so verweise ich auf die dem Text vorgesetzte, alphabetisch geordnete Erklärungstafel.

Die Dosirung des Infectionsstoffes erfolgte in allen nachstehenden Versuchen genau in der Weise, wie sie im Heft 6 der Beiträge S. 3ff. beschrieben ist, also durch genaue Abwägung der zur Infection bestimmten Dosis Tb. auf der chemischen Wage. Die benutzten Kulturen waren in der Regel 3—4 Wochen alt; die zur Anwendung gekommenen Vacuum-Tb. sind, wenn nicht ausdrücklich etwas Anderes vermerkt ist, frische d. h. nicht über 4 Wochen alte Präparate.

Im Uebrigen muss auf die specielle Erläuterung zu einem jeden einzelnen Protokoll verwiesen werden.

Tafel 9a

[illegible]

März 1903

10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	1	2	3	4	5	6

41

40

39

38

47 150

48600

51 320

170300

Tafel 9b

Temp.	19	19	20	2	31	31	1	2	3	4	5	6
42,0												
41,0												
40,0												
39,0												
38,0												
37,0												

Medication:

Gewicht:

Bemerkungen:

No 10

geb. 22. [illegible]

m. Cat[illegible]

m. [illegible]

Tafel 9b

R. m. [illegible]

II 02

lina HB 241

fell HB 138

[illegible]

März 19[illegible]

Temp.

42,0 9 8 7 6 5 4 3 2 1 41,0 9 8 7 6 5 4 3 2 1 40,0 9 8 7 6 5 4 3 2 1 39,0 9 8 7 6 5 4 3 2 1 38,0 9 8 7 6 5 4 3 2 1 37,0

18 19 20 2[illegible] 31 3/ 1 2 3 4 5 6

Medication:

Gewicht:

Bemerkungen:

Tafel 9c

2	3	4	5	6

Tafel 9d

Temp.

Temp.
42,0
9
8
7
6
5
4
3
2
1
41,0
9
8
7
6
5
4
3
2
1
40,0
9
8
7
6
5
4
3
2
1
39,0
9
8
7
6
5
4
3
2
1
38,0

[illegible]
[illegible]
[illegible]

Tafel 9k

Sch. Mein[?] ... No 20 ...

26. III 03

...

... 03

2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21

Inch.

13 14 15 16 17 18 19 20 21 22

0'2 Tuberkulin

156/500

0·04 Kb. m. Zcm³, Sp. M. D. E. 18-17/1 c. v.

Schlechtes Allgemeinbefinden

b. 13 (Wien), $10^1/_2$ Monate

354

12 14 14 20 21

hónap	
Gyógykezelés	Temp. 42,0 9 8 7 6 5 4 3 2 1 41,0 9 8 7 6 5 4 3 2 1 40,0
Suly	9 8 7 6 5 4 3 2 1 39,0 9 8 7 6 5 4 3 2 1 38,0

Tafel 11e

nährt.

alt. Künstlich ernährt.

1902

December

December

Gyógykezelés

Suly

41

40,

39,0

38,0

Verlag von **August Hirschwald, Berlin**
[illegible]

Diphtherie.

[illegible], [illegible], Erkennung und V[illegible]

von Prof. Dr. **E. v. Behring.**

[illegible]

8. Mit 2 Abbildungen im Text. 1901. Geb. 5 [illegible]

(Bibliothek v. Coler-Schjerning, Bd. 2.)

Die experimentelle Diagnostik, Serumthera[illegible] Prophylaxe der Infectionskrankheite[illegible]

von Stabsarzt Dr. **E. Marx.**

8. Mit 1 Figur im Text und 2 lithographischen Tafeln. [illegible] Geb. 8 M. (Bibliothek von Coler-Schjerning, Bd. 1[illegible]

Das Sauerstoffbedürfniss des Organis[illegible]

Eine farbenanalytische Studie

von Prof. Dr. **P. Ehrlich.**

8. 1885. 3 M. 60 Pf.

Beiträge zur Theorie der Bacillenfärbu[illegible]

von Prof. Dr. **P. Ehrlich.**

8. 1886. 40 Pf. (Sonderabdruck aus Charité-Annalen[illegible]

Farbenanalytische Untersuchungen zur Histologie un[illegible] des Blutes

von Prof. Dr. **P. Ehrlich.**

Gesammelte Mittheilungen. I. Theil. gr. 8. 1891. 4 [illegible]

Grundriss der Farbchemie

zum Gebrauch bei mikroskopischen Arbeiten

von Dr. **Artur Pappenheim.**

gr. 8. 1901. 11 M.

Leitfaden zur klinischen Untersuchung des [illegible]

von Dr. med. **C. S. Engel.**

Zweite Auflage. gr. 8. Mit 10 Textfiguren und 4 Taf[illegible] in Farbendruck. 1902. 5 M.

Die Bekämpfung des Typhus

von Geh. Rath Prof. Dr. **Robert Koch.**

(Veröffentlichungen aus dem Gebiete des Militär-Sanitätswesens, H[illegible]

gr. 8. 1903. 50 Pf.

Druck von L. Schumacher in Berlin N. 24.